

**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
BỘ Y TẾ**

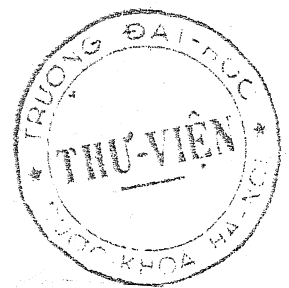


DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM

Lần xuất bản thứ tư

HÀ NỘI - 2009

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM



**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
BỘ Y TẾ**



DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM

Lần xuất bản thứ tư

HÀ NỘI - 2009

Hội đồng Dược điển Việt Nam, Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam giữ bản quyền Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ tư

Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam

48 Hai Bà Trưng, Hoàn Kiếm, Hà Nội

Điện thoại : (84-4) 38256905

Fax: : (84-4) 39343547

E-mail: hddvn@hn.vnn.vn

PHARMACOPOEIA VIETNAMICA

EDITIO IV

BỘ Y TẾ

Số: 3195/QĐ-BYT

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Hà Nội, ngày 01 tháng 9 năm 2009

QUYẾT ĐỊNH

Về việc ban hành Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ tư

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Căn cứ Nghị định số 188/2007/NĐ-CP ngày 27/12/2007 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Căn cứ Luật Dược ngày 14/6/2005;

Căn cứ Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật ngày 29/6/2006;

Căn cứ Luật Chất lượng sản phẩm, hàng hóa ngày 21/11/2007;

Căn cứ Nghị định số 79/2006/NĐ-CP ngày 09/8/2006 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Dược;

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

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

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

Căn cứ Quyết định số 1281/QĐ-BKHCN ngày 16/7/2009 của Bộ Khoa học và Công nghệ về việc công bố Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc;

Xét đề nghị của Ông Cục trưởng Cục Quản lý dược,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ tư, gồm các Tiêu chuẩn quốc gia về thuốc:

- 1 - Tiêu chuẩn về nguyên liệu hóa dược và thành phẩm hóa dược;
- 2 - Tiêu chuẩn về dược liệu và thuốc từ dược liệu;
- 3 - Tiêu chuẩn về chế phẩm vắc xin và sinh phẩm y tế;
- 4 - Tiêu chuẩn về phương pháp kiểm nghiệm chung cho thuốc và nguyên liệu làm thuốc dùng cho người.

Điều 2. Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ tư có hiệu lực từ ngày 01/01/2010. Bãi bỏ các quy định tại Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ nhất, Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ hai và Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ ba.

Điều 3. Các Ông/Bà: Vụ trưởng Vụ Khoa học và Đào tạo, Cục trưởng Cục Quản lý dược, Chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam, Giám đốc Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam có trách nhiệm hướng dẫn việc áp dụng Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ tư.

Điều 4. Các Ông/Bà: Chánh Văn phòng Bộ Y tế, Vụ trưởng Vụ Khoa học và Đào tạo, Cục trưởng Cục Quản lý dược, Thủ trưởng các Vụ/Cục, Tổng Cục và các đơn vị trực thuộc Bộ Y tế, Giám đốc Sở Y tế các tỉnh, thành phố trực thuộc Trung ương, Thủ trưởng Y tế các ngành, Chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam và Giám đốc Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này.

BỘ TRƯỞNG

Nguyễn Quốc Triệu

NỘI DUNG

	Trang
Lời giới thiệu	xi
Lời nói đầu	xiii
Lịch sử Dược điển nước Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam	xv
Hội đồng Dược điển Việt Nam IV	xix
Các cộng tác viên	xxi
Các cơ quan và đơn vị tham gia xây dựng Dược điển Việt Nam IV	xxiii
Danh mục các chuyên luận	xxv
Danh mục chuyên luận mới so với ĐĐVN III	xxxiv
Danh mục các chuyên luận của ĐĐVN III không đưa vào ĐĐVN IV	xxxix
Qui định chung	xli
Các chuyên luận	
Nguyên liệu hoá dược và thành phẩm hoá dược	1
Vắc xin và sinh phẩm y tế	641
Dược liệu	679
Thuốc từ dược liệu	939
Phổ hồng ngoại	P-1
Các phụ lục	PL-1
Mục lục tra cứu theo tên Việt Nam	ML-1
Mục lục tra cứu theo tên Latin	ML-35

LỜI GIỚI THIỆU

Hội đồng Dược điển Việt Nam được thành lập từ năm 1963, để tổ chức công tác xây dựng Dược điển Việt Nam và tiêu chuẩn hóa thuốc. Trong hơn 45 năm qua, Hội đồng Dược điển Việt Nam đã không ngừng được củng cố, phát triển, và đã biên soạn, trình Bộ Y tế ban hành 4 Bộ Dược điển Việt Nam. Bộ Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ nhất (I) năm 1971, Bộ Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ hai (II) năm 1990, Bộ Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ ba (III) năm 2002, và nay là Bộ Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ tư (IV) năm 2009.

Dược điển Việt Nam là Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc, quy định về tiêu chuẩn chất lượng thuốc và các phương pháp chung về kiểm nghiệm thuốc, là văn bản quy phạm kỹ thuật quan trọng của ngành Y tế trong công tác kiểm tra, giám sát, quản lý, đảm bảo và nâng cao chất lượng thuốc phục vụ sự nghiệp chăm sóc và bảo vệ sức khỏe nhân dân.

Để từng bước triển khai thực hiện Chính sách thuốc quốc gia, Chiến lược phát triển ngành Dược, trong thời gian qua (2004 - 2009), Bộ Y tế, Hội đồng Dược điển Việt Nam, các đơn vị từ trung ương tới địa phương, các chuyên gia trong và ngoài ngành Y tế đã tập trung nghiên cứu xây dựng, biên soạn, thẩm định và hoàn chỉnh Bộ Tiêu chuẩn Quốc gia về thuốc - Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ tư (IV) theo quy định của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật và được ban hành theo quy định tại Luật dược.

Dược điển Việt Nam IV đã được tổ chức biên soạn một cách khoa học, công phu, theo một quy trình thống nhất, xem xét sửa đổi các tiêu chuẩn đã ban hành và bổ sung nhiều tiêu chuẩn thuốc mới. Các tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam IV đảm bảo sự kế thừa truyền thống của các Dược điển Việt Nam trước đây, đồng thời cập nhật nhiều tiến bộ khoa học kỹ thuật tiên tiến, đưa vào nhiều mức chất lượng cao tương đương với các nước trong khu vực và thế giới, đảm bảo tính thực thi áp dụng đối với các cơ sở sản xuất, kinh doanh trong nước, phù hợp với thông lệ quốc tế và hài hòa với các Dược điển tiên tiến trên thế giới.

Bộ Y tế Ban hành Dược điển Việt Nam IV làm cơ sở pháp lý cho các cơ quan quản lý, kỹ thuật, các đơn vị, doanh nghiệp, cá nhân hoạt động trong lĩnh vực dược để tăng cường công tác tiêu chuẩn hóa chất lượng thuốc, đảm bảo thuốc có chất lượng ngày càng cao phục vụ cho nhu cầu trong nước và xuất khẩu. Dược điển Việt Nam là tài liệu kỹ thuật làm căn cứ để quản lý, kiểm tra, đánh giá chất lượng thuốc lưu hành ở Việt Nam.

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

TS. Nguyễn Quốc Triệu

LỜI NÓI ĐẦU

Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ ba (ĐDVN III) được Bộ Y tế ban hành và có hiệu lực từ 01/7/2002. Từ ngày ban hành, Dược điển đã trở thành văn bản quy phạm kỹ thuật quan trọng về tiêu chuẩn hóa và kiểm nghiệm chất lượng thuốc ở tất cả các cơ sở sản xuất và kiểm tra chất lượng dược phẩm trên cả nước. ĐDVN III là một văn bản kỹ thuật chuẩn mực của Bộ Y tế và được tham chiếu trong mọi hoạt động đào tạo, nghiên cứu khoa học liên quan đến thuốc ở các đơn vị trong toàn ngành y tế. Dược điển đã góp phần tích cực vào việc phát triển, hiện đại hóa ngành Dược, đảm bảo và nâng cao chất lượng thuốc phục vụ sự nghiệp chăm sóc và bảo vệ sức khỏe nhân dân.

Ngày 30/6/2003, tại Quyết định số 2471/BYT-QĐ, Bộ trưởng Bộ Y tế đã thành lập Ban Thường trực Hội đồng Dược điển Việt Nam IV và giao cho Hội đồng việc xây dựng ĐDVN IV, đồng thời hướng dẫn triển khai thực hiện ĐDVN III vừa được ban hành. Qua hơn 5 năm triển khai thực hiện, đến nay Hội đồng đã hoàn thành việc xây dựng Bộ tiêu chuẩn Quốc gia về thuốc - Dược điển Việt Nam và đã được Bộ trưởng Bộ Khoa học công nghệ công bố lần xuất bản thứ nhất ngày 16/07/2009. Ngày 01/09/2009 Bộ trưởng Bộ Y tế đã ký quyết định ban hành ĐDVN IV và có hiệu lực thi hành từ 01/01/2010.

ĐDVN IV có 1157 chuyên luận (tiêu chuẩn), bao gồm 356 chuyên luận nguyên liệu hóa dược; 260 chuyên luận thành phẩm hóa dược; 314 chuyên luận dược liệu và thuốc từ dược liệu; 25 chuyên luận vắc xin và sinh phẩm y tế; 154 phổ hồng ngoại chuẩn; 202 chuyên luận về phương pháp kiểm nghiệm thuốc và quy định chung với trên 500 hóa chất, thuốc thử dùng trong kiểm nghiệm.

ĐDVN IV đã đưa vào nhiều chuyên luận thuốc thành phẩm ở các dạng bào chế khác nhau phù hợp với tình hình phát triển công nghiệp dược hiện nay ở nước ta. Các chuyên luận hóa dược, dược liệu và vắc xin cũng có sự thay đổi cập nhật phù hợp với tình hình hiện nay. Bên cạnh những phương pháp kiểm nghiệm phân tích kinh điển, nhiều phương pháp, kỹ thuật phân tích hiện đại đã được bổ sung vào Dược điển như sắc ký lỏng hiệu năng cao, sắc ký khí, điện di mao quản, quang phổ nguyên tử phát xạ và hấp thụ, phân tích acid-amin, phân tích hóa chất bảo vệ thực vật tồn dư trong dược liệu v.v... Nhiều chuyên luận thuốc mới, nhiều mức chất lượng cao trong tiêu chuẩn của nguyên liệu và thành phẩm thuốc tương đương với trình độ tiên tiến của các nước trong khu vực và trên thế giới đã được đưa vào Dược điển. Những thay đổi này là hoàn toàn phù hợp trong bối cảnh Việt Nam đã là thành viên chính thức của Tổ chức Thương mại Thế giới (WTO) với nền kinh tế đang phát triển năng động và hội nhập với thế giới.

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

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

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

Mặc dù Dược điển Việt Nam IV đã được xây dựng theo một quy trình chặt chẽ, công phu nhưng chắc chắn khó tránh khỏi một số thiếu sót. Hội đồng Dược điển mong nhận được những góp ý, phê bình để tiếp tục sửa đổi, bổ sung nhằm làm cho Dược điển ngày càng hoàn thiện, đáp ứng yêu cầu thực tiễn về tiêu chuẩn hóa và kiểm tra chất lượng thuốc, góp phần đảm bảo và nâng cao chất lượng thuốc phục vụ sự nghiệp chăm sóc và bảo vệ sức khỏe nhân dân.

HỘI ĐỒNG DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM
CHỦ TỊCH
TS. Nguyễn Văn TỰ

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

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

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

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

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

Phải thể hiện được phương châm kết hợp đồng tâm ý đúng mức.

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

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

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

Từ sau ngày giải phóng Miền Nam, Bộ Y tế đã cho in lại 4 000 cuốn ĐDVN I có kết hợp sửa chữa và bổ sung theo nội dung của bản bổ sung năm 1977, để đáp ứng yêu cầu công tác tiêu chuẩn hóa và đảm bảo chất lượng thuốc cho Ngành Dược của cả nước Việt Nam thống nhất.

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

Trước thực tế Việt Nam có nền y học cổ truyền dân tộc lâu đời, thực hiện phương châm của Đảng và Nhà nước về kế thừa, phát huy, phát triển y học cổ truyền, kết hợp y học cổ truyền với y học hiện đại và hiện đại hóa y học cổ truyền, thuốc từ dược liệu và thuốc y học cổ truyền cũng được sử dụng ngày càng nhiều và rộng rãi. Để thống nhất tiêu chuẩn trong toàn ngành, nâng cao chất lượng thuốc cổ truyền, việc tiến hành xây dựng cuốn ĐĐVN I, tập 2, phần đông dược là một yêu cầu bức thiết. Bộ Y tế đã có Quyết định ngày 16 tháng 9 năm 1968 thành lập Ban Đông dược của HĐĐĐ VN do GS.TS. Trương Công Quyền, Chủ tịch Hội đồng ĐĐVN kiêm Trưởng ban với 4 Phó ban: GS.TSKH. Đỗ Tất Lợi; BS. Lương y Lê Văn Lôi; Lương y Lê Văn Quỳnh và Lương y Phó Đức Thành. Ban Đông dược có 3 tiểu ban: Dược liệu, Y lý Đông y và Bảo chế. Số thành viên tham gia xây dựng cuốn Dược điển Việt Nam I, tập 2 (phần đông dược) gồm 5 cán bộ chuyên trách trong tổng số 8 cán bộ thuộc biên chế Văn phòng HĐĐĐ VN lúc đó, cùng 23 ủy viên, 11 cộng tác viên và 7 cơ quan.

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

1. Xây dựng và xuất bản cuốn Dược liệu Việt Nam (1969 - 1972) gồm 341 dược liệu trong nước, 74 dược liệu nhập ngoại, 3 chuyên luận chung về trồng cây thuốc, chế biến, bảo chế, bảo quản thuốc cổ truyền dân tộc. Trong bước này đã thống nhất chọn tên chính, tên khoa học, tên khác của cây thuốc hoặc bộ phận dùng làm thuốc, mô tả, hình vẽ bộ phận dùng của dược liệu, tính vị, công dụng, liều dùng, cách dùng... Nhờ tập hợp được các lương y và các dược sĩ có nhiều kinh nghiệm, Ban Đông dược đã thảo luận và đi đến thống nhất quan điểm về các vấn đề chuyên môn. Cuốn Dược liệu Việt Nam đã được xuất bản 2 lần, lần thứ nhất là 5.000 cuốn và lần thứ hai là 12.000 cuốn.
2. Dự kiến danh mục, thống nhất nội dung, bố cục các chuyên luận và biên soạn dự thảo ĐĐVN I (phần đông dược) (1970 - 1975). Yêu cầu về nội dung của cuốn Dược điển Việt Nam I, tập 2 (phần đông dược) cao hơn các chuyên luận trong cuốn Dược liệu Việt Nam. Ngoài phương pháp kiểm nghiệm định tính, thử tính khiết, định lượng còn có thêm mục chế biến, bảo quản và những vấn đề cần thiết cho các lương y như: Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị, cách dùng, liều lượng và kiêng kỵ.
3. In các dự thảo, gửi tới các cơ sở để thu thập ý kiến đóng góp (1975 - 1980).
4. Chính lý bản dự thảo, trình Bộ Y tế duyệt và cho phép xuất bản. Tháng 4-1983 cuốn Dược điển Việt Nam in lần thứ nhất tập 2 (Thuốc Dân tộc) được ban hành với 244 chuyên luận, số lượng 4000 cuốn. Như vậy đến 1983, Bộ ĐĐVN I đã được hoàn chỉnh cả về tân dược và đông dược.

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

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

Sau 10 năm đổi mới, tình hình ngành Dược trong nước đã có nhiều chuyển biến tích cực đáng kể. Vào giữa thập niên 90, thị trường thuốc ở Việt Nam đã tăng gấp 6 lần những năm cuối thập kỷ 80. Công nghiệp dược trong nước đã có bước phát triển mới, sản xuất gần 5 000 dược phẩm. Khoảng 200 công ty dược phẩm nước ngoài

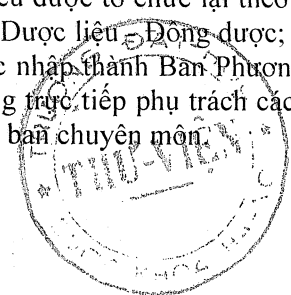
được cấp giấy phép hoạt động ở Việt Nam. Khoảng 4 000 dược phẩm nước ngoài thuộc các khu vực trên thế giới được cấp số đăng ký ở Việt Nam. Công tác tiêu chuẩn hóa và đảm bảo chất lượng thuốc trong nước, thuốc nước ngoài ngày càng được nâng cao. Năm 1995, Việt Nam trở thành thành viên thứ mười của Hiệp hội các quốc gia Đông Nam Á (khối ASEAN) và từng bước chủ động tham gia tiến trình hội nhập quốc tế. Việc soạn thảo và ban hành Dược điển Việt Nam lần thứ 3 là một biện pháp quan trọng để bảo đảm hiệu lực cho công tác quản lý nhà nước về chất lượng thuốc trong tình hình đất nước và bối cảnh quốc tế mới.

Ngày 25-7-1994, trong Quyết định số 519/BYT-QĐ Bộ trưởng Bộ Y tế đã công bố danh sách Ban thường trực HĐDD VN III gồm 11 thành viên do GS.TS. Trương Công Quyền Chủ tịch Hội đồng, 7 phó chủ tịch: PGS.TS. Lê Văn Truyền, PGS. Doãn Huy Khắc (kiêm Trưởng ban thư ký), GS.TS. Nguyễn Văn Đàn, GS.TSKH. Đặng Đức Trạch, PGS. Vũ Khánh, PGS. Ngô Gia Trúc và PGS. Trần Thị Hoàng Ba. Các Phó trưởng ban thư ký gồm: TS. Nguyễn Vi Ninh, PGS.TS. Trịnh Văn Quỳnh và TS. Nguyễn Văn Thị. Cuối năm 1997, trong Quyết định số 2678/1997/BYT-QĐ ngày 23-12-1997, Bộ trưởng Bộ Y tế bổ nhiệm PGS.TS. Lê Văn Truyền - Thứ trưởng Bộ Y tế giữ chức vụ Chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam III, tiếp nối nhiệm vụ Chủ tịch HĐDD Việt Nam mà GS.TS. Trương Công Quyền đã đảm nhiệm trong hơn 3 thập kỷ. Các Ban của Hội đồng nói chung vẫn giữ nguyên về tổ chức, riêng ban phương pháp kiểm nghiệm chung tách thành 2 ban: Ban phương pháp phân tích thuốc thử và chất đối chiếu và Ban phương pháp sinh học. Các cán bộ tham gia xây dựng ĐDVN III gồm: 4 cán bộ chuyên trách thuộc biên chế Văn phòng Hội đồng Dược điển Việt Nam, 176 ủy viên và các cộng tác viên, nhiều cơ quan trong ngành Y tế.

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

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

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



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

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

Công tác xây dựng DĐVN IV được triển khai với một kế hoạch tổng thể được Bộ Y tế phê duyệt. Vào thời kỳ này, Luật Dược đã được Quốc hội khóa XI, kỳ họp thứ 7 thông qua ngày 14/6/2005. Dược điển Việt Nam đã được xác định trong Luật Dược là bộ Tiêu chuẩn quốc gia về chất lượng thuốc và các phương pháp kiểm nghiệm thuốc. Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật cũng được Quốc hội khóa XI, kỳ họp thứ 9 thông qua ngày 29/6/2006 chỉ phối việc xây dựng và ban hành Dược điển, đòi hỏi công tác này phải tuân theo những quy trình, thủ tục đầy đủ và chặt chẽ.

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

Thời gian này, Dược điển Việt Nam IV đã cơ bản hoàn thành và được Bộ Y tế nghiệm thu cấp Bộ. Để đáp ứng các quy định tại Thông tư 11/2008/TTLT/BYT-BKHCN, các tiêu chuẩn quốc gia về thuốc của Dược điển Việt Nam IV đã được gửi thẩm tra về chuyên môn tại Cục Quản lý Dược và thẩm định tại Tổng cục Tiêu chuẩn - Đo lường - Chất lượng. Ngày 16 tháng 7 năm 2009 Bộ trưởng Bộ Khoa học và Công nghệ đã ký công bố Bộ Tiêu chuẩn quốc gia (TCVN I: 2009) xuất bản lần 1, bao gồm: TCVN I-1: 2009 Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - phần 1: Phương pháp kiểm nghiệm thuốc; TCVN I-2: 2009 Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - phần 2: Nguyên liệu hóa dược; TCVN I-3: 2009 Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - phần 3: Thành phẩm hóa dược; TCVN I-4: 2009 Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - phần 4: Dược liệu và thuốc từ dược liệu; TCVN I-5: 2009 Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - phần 5: Vắc xin và sinh phẩm y tế. Trên cơ sở công bố Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc TCVN I: 2009 của Bộ trưởng Bộ Khoa học và Công nghệ; ngày 24 tháng 7 năm 2009 Hội đồng Dược điển Việt Nam đã có Công văn số 40/DĐ-DT đề nghị Bộ Y tế có quyết định ban hành Dược điển Việt Nam IV và ngày 01 tháng 9 năm 2009, Bộ trưởng Bộ Y tế đã ký Quyết định số 3195/QĐ-BYT về việc ban hành Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ tư, có hiệu lực thi hành từ 01/01/2010.

Hội đồng đã huy động khoảng 200 chuyên gia y và dược từ Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, Viện Kiểm nghiệm thuốc TP. Hồ Chí Minh, Viện Kiểm định quốc gia vắc xin và sinh phẩm y tế, Trường đại học Dược Hà Nội, Trường Đại học Y - Dược TP. Hồ Chí Minh, Viện Dược liệu, và nhiều đơn vị sản xuất, kiểm nghiệm và nghiên cứu về thuốc khác tham gia vào công tác Dược điển. Trong 5 năm từ 2003 đến 2008, các chuyên luận DĐVN IV đã được xây dựng và biên soạn công phu theo một quy trình khoa học thống nhất; lần lượt qua các bước xây dựng danh mục, biên soạn dự thảo, khảo nghiệm, lấy ý kiến, thẩm định, nghiệm thu để trình các cấp có thẩm quyền công bố và ban hành áp dụng. DĐVN IV có 1157 chuyên luận, bao gồm 356 nguyên liệu hóa dược, 260 thành phẩm hóa dược, 314 dược liệu và thuốc từ dược liệu, 25 vắc xin và sinh phẩm y tế; còn lại là các chuyên luận về phương pháp kiểm nghiệm và quy định chung. Nội dung của DĐVN IV đã phản ánh trình độ phát triển hiện nay của ngành Dược Việt Nam, cập nhật những tiến bộ khoa học công nghệ sản xuất và kiểm nghiệm dược phẩm trên thế giới, đáp ứng yêu cầu đảm bảo chất lượng thuốc cho đất nước trong bối cảnh toàn cầu hóa và hội nhập kinh tế thế giới.

Trải qua 46 năm hoạt động, Hội đồng Dược điển Việt Nam đã xây dựng và xuất bản 4 lần DĐVN, trong đó DĐVN III, DĐVN IV có thêm phiên bản tiếng Anh. Dược điển Việt Nam đã thực sự góp phần vào việc tiêu chuẩn hóa chất lượng thuốc, quản lý và nâng cao chất lượng dược phẩm sản xuất, lưu hành trong nước, đóng góp hiệu quả vào quá trình phát triển và từng bước hiện đại hóa ngành Dược nước nhà.

HỘI ĐỒNG DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM IV

(Theo Thông tư số 19-BYT/TT ngày 19/7/1963, Quyết định số 2471/QĐ-BYT ngày 30/6/2003, Quyết định số 4565/QĐ-BYT ngày 21/12/2004, Quyết định số 1766/QĐ-BYT ngày 18/5/2006 và Quyết định số 1767/QĐ-BYT ngày 18/5/2006) và Quyết định số 1120/QĐ-BYT ngày 31/3/2008 (2003-2009)

Chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam IV

PGS.TS. Trịnh Văn Quý (2/2003-3/2008)

TS. Nguyễn Văn Tựu (từ 4/2008)

Các Phó chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam IV

Cục trưởng Cục Quản lý Dược: TS. Trần Công Kỳ (từ 6/2003 đến 5/2004), TS. Cao Minh Quang (5/2004-8/2007), TS. Trương Quốc Cường (từ 8/2007).

Viện trưởng Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương: PGS.TS. Trịnh Văn Lầu.

Viện trưởng Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh: TS. Cao Minh Quang (từ 6/2003-5/2004),

DS. Nguyễn Văn Mô (5/2004 - 11/2008), TS. Nguyễn Ngọc Vinh (từ 11/2008).

Viện trưởng Viện Kiểm định quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế: GS.TS. Nguyễn Đình Bảng (6/2003-5/2006), PGS.TS. Lê Văn Phụng (từ 5/2006).

Phó Chủ tịch Hội đồng khoa học - Kỹ thuật, Bộ Y tế, Trưởng ban Dược và Trang thiết bị y tế: GS.TS. Phạm Thanh Kỳ.

Lãnh đạo Vụ Khoa học - Đào tạo, Bộ Y tế: TS. Phạm Quốc Bảo (Từ 5/2006).

Ban Thường trực Hội đồng Dược điển IV

Gồm Chủ tịch, các Phó chủ tịch, Trưởng ban và Phó trưởng ban thư ký.

Ban thư ký

Trưởng ban: PGS.TS. Trịnh Văn Lầu.

Phó trưởng ban: ThS. Cao Thị Mai Phương,

DS. Nguyễn Văn Viên.

Các uỷ viên: ThS. Lê Thanh Hải, ThS. Đặng Thị Minh Hằng, ThS. Lục Thị Thu Hằng, CN. Thạch Thị Hiền, ThS. Nguyễn Thị Hương, TS. Nguyễn Văn Lợi, ThS. Nguyễn Thị Phương Mai, TS. Đỗ Thủy Ngân, DSKKI. Trương Thị Nguyệt, CN. Ngô Quang Tài, CN. Hà Thị Thúy.

Ban Danh pháp quy chế

Trưởng ban: TS. Cao Minh Quang (12/2004-8/2007), TS. Trương Quốc Cường (từ 8/2007).

Phó trưởng ban: ThS. Nguyễn Xuân Hạnh (12/2004-5/2006), PGS.TS. Nguyễn Quang Đạt (từ 5/2006).

Thư ký ban: ThS. Đặng Thị Minh Hằng.

Ban Hóa dược

Trưởng ban: PGS.TS. Trịnh Văn Lầu.

Phó trưởng ban: ThS. Phan Thị Thuỳ Chi, PGS.TS. Trương Phương.

Thư ký ban: ThS. Nguyễn Thị Hương.

Các uỷ viên: DS. Vũ Bạch Dương, PGS.TS. Trần Thành Đạo, TS. Vĩnh Định, ThS. Nguyễn Thanh Hà, ThS. Nguyễn Thị Thu Hà, ThS. Trần Thuý Hạnh, PGS.TS. Trần Đức Hậu, ThS. Lê Thị Hương Hoa,

PGS.TS. Võ Thị Bạch Huệ, DS. Lê Thị Cẩm Hương, PGS.TS. Nguyễn Hải Nam, ThS. Nguyễn Hồng Quân, TS. Đoàn Cao Sơn, ThS. Nguyễn Thị Kim Thanh, PGS.TS. Lê Minh Trí, PGS.TS. Nguyễn Đức Tuấn.

Ban Bào chế

Trưởng ban: DS. Nguyễn Văn Mô (từ 12/2004 - 11/2008), TS. Nguyễn Ngọc Vinh (từ 11/2008).

Phó trưởng ban: GS.TS. Võ Xuân Minh, ThS. Nguyễn Thị Kim Xuân (2004-5/2006), ThS. Bùi Thị Hòa (từ 5/2006).

Thư ký ban: ThS. Cao Thị Mai Phương, DSKKI. Đỗ Thị Cẩm Vân.

Các uỷ viên: PGS.TS. Hoàng Minh Châu, ThS. Trần Thị Quỳnh Chi, ThS. Lục Thị Thu Hằng, ThS. Hà Minh Hiền, PGS.TS. Nguyễn Đăng Hoà, PGS.TS. Huỳnh Văn Hoá, ThS. Lê Văn Lăng, ThS. Nguyễn Đăng Lâm, PGS.TS. Nguyễn Văn Long, DSKKI. Nguyễn Quang Luân, ThS. Hoàng Mãng, DS. Phạm Hồng Phương, DSKKI. Bùi Văn Thanh.

Ban Dược liệu - Đông dược

Trưởng ban: GS.TS. Phạm Thanh Kỳ.

Phó trưởng ban: PGS.TS. Chu Quốc Trường, PGS.TS. Trần Hùng.

Thư ký ban: ThS. Nguyễn Thị Phương Mai.

Các uỷ viên: ThS. Vương Văn Ảnh, DS. Nguyễn Thị Minh Châu, CN. Nguyễn Chiêu, DS. Nguyễn Thị Kim Danh, ThS. Phạm Thị Giảng, TS. Nguyễn Thu Hằng, TS. Võ Văn Lẹo, TS. Bùi Mỹ Linh, TS. Lại Quang

Long, TS. Nguyễn Thị Nhung, TS. Đỗ Quyên, PGS.TS. Phạm Xuân Sinh, ThS. Nguyễn Thị Phương Thảo, PGS.TS. Nguyễn Duy Thuận, TS. Nguyễn Thị Bích Thu, TS. Huỳnh Ngọc Thụy, DS. Võ Thị Bạch Tuyết, TS. Nguyễn Văn Tựu, PGS.TS. Nguyễn Viết Thân.

Ban Vắc xin và Sinh phẩm

Trưởng ban: GS.TS. Nguyễn Đình Bảng (12/2004-5/2006), PGS.TS. Lê Văn Phụng (từ 5/2006).

Phó trưởng ban, kiêm thư ký ban: TS. Đỗ Thủy Ngân.

Các uỷ viên: TS. Hoàng Thị Hồng, TS. Nguyễn Thị Kim Hương, ThS. Hoàng Quang Huy, PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Linh, PGS.TS. Lê Thị Luân.

Ban Phương pháp kiểm nghiệm chung

Trưởng ban: PGS.TS. Trịnh Văn Quỳ.

Phó trưởng ban: PGS.TS. Thái Phan Quỳnh Như, TS. Phùng Thị Vinh.

Thư ký ban: ThS. Cao Thị Mai Phương, ThS. Lục Thị Thu Hằng.

Các uỷ viên: PGS.TS. Trần Tử An, ThS. Nguyễn Tuấn Anh, PGS.TSKH. Đỗ Trung Đàm, ThS. Bùi Thị Hòa, ThS. Đặng Trần Phương Hồng, TS. Trần Việt Hùng, DSCKI. Nguyễn Duy Khang, ThS. Trương Thị Thu Lan, DS. Lê Tân Phúc, DS. Phạm Hồng Phương, ThS. Huỳnh Thị Thành, TS. Nguyễn Văn Thị, TS. Nguyễn Ngọc Vinh.

Ban Biên tập - Hiệu đính

Trưởng ban: PGS.TS. Trịnh Văn Quỳ.

Các uỷ viên: GS.TS. Phạm Thanh Kỳ, ThS. Lục Thị Thu Hằng, ThS. Nguyễn Thị Hương, ThS. Nguyễn Thị Phương Mai, TS. Đỗ Thủy Ngân, ThS. Cao Thị Mai Phương.

Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam

Giám đốc: ThS. Cao Thị Mai Phương.

Phó Giám đốc: ThS. Lục Thị Thu Hằng.

Cán bộ chuyên trách: DS. Lê Thị Thu Hiền, ThS. Nguyễn Thị Hương, ThS. Nguyễn Thị Phương Mai, CN. H Thị Thúy.

CÁC CỘNG TÁC VIÊN

PGS.TS. Nguyễn Thái An	DS. Nguyễn Trọng Lưu
DS. Phạm Hồng Anh	ThS. Ngô Thị Xuân Mai
TS. Trần Thị Hồng Anh	DS. Dương Nguyễn Hồng Mai
DS. Nguyễn Thị Vân Anh	DS. Phạm Hồng Minh
ThS. Cao Ngọc Anh	DSCKI. Dương Công Minh
PGS.TS. Nguyễn Thị Bay	KS. Tống Hữu Nghị
DS. Nguyễn Thị Bích	PGS.TS. Lê Quan Nghiệm
PGS.TS. Đỗ Hòa Bình	DS. Nguyễn Thị Trang Nhung
PGS.TS. Phùng Hòa Bình	DS. Đỗ Thị Oanh
DSCKI. Nguyễn Thanh Bình	TS. Phạm Đông Phương
PGS.TS. Phạm Văn Ca	ThS. Trần Anh Phương
DS. Hà Thị Minh Châu	ThS. Nguyễn Thị Thanh Phương
LY. Hoàng Bảo Châu	DS. Trịnh Thị Quy
DS. Lữ Thị Kim Chi	DSCKII. Trần Thị Lệ Sung
TS. Lê Đình Chi	TS. Nguyễn Thị Minh Tâm
TS. Nguyễn Thị Minh Chung	ThS. Phạm Thanh Tâm
ThS. Huỳnh Ngọc Di	DS. Hoàng Thanh Tâm
DS. Đỗ Quý Diệm	ThS. Nguyễn Phương Thanh
ThS. Đặng Thu Dung	DS. Nguyễn Thị Thanh
ThS. Phạm Thị Duyên	ThS. Đỗ Thị Thanh
PGS.TS. Vũ Văn Điền	ThS. Nguyễn Nhật Thành
ThS. Nguyễn Văn Hà	DS. Nguyễn Hữu Thành
DS. Nguyễn Việt Hà	ThS. Lê Thị Thanh Thảo
DS. Mai Thanh Hà	ThS. Nguyễn Thị Thanh Thảo
DS. Hà Minh Hiền	ThS. Lê Thị Minh Thảo
ThS. Nguyễn Thị Hoa	ThS. Lê Thị Thu
ThS. Nguyễn Thị Vĩnh Hồng	DS. Vũ Thị Minh Thu
CN. Hoàng Khánh Hòa	ThS. Đỗ Thị Thanh Thủy
ThS. Lê Xuân Huê	ThS. Nguyễn Đức Toàn
GS. Phạm Gia Huê	ThS. Đỗ Văn Trân
ThS. Tạ Mạnh Hùng	GS.TS. Nguyễn Thu Vân
ThS. Lê Thị Thiên Hương	DS. Bùi Thị Vân
ThS. Hoàng Thị Hường	ThS. Lục Thị Vân
TS. Đặng Văn Khánh	ThS. Trần Thị Bích Vân
PGS.TS. Trần Công Khánh	DS. Lê Viễn
TS. Nguyễn Viết Kinh	KS. Nguyễn Bá Vương
ThS. Trần Công Luận	DS. Nguyễn Thị Hồng Yến...

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

Cục quản lý Dược, Bộ Y tế
Vụ Khoa học và Đào tạo, Bộ Y tế
Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, Bộ Y tế
Viện Kiểm nghiệm thuốc TP. Hồ Chí Minh, Bộ Y tế
X Trường Đại học Dược Hà Nội
Khoa Dược, Trường Đại học Y - Dược TP. Hồ Chí Minh
Viện Dược liệu, Bộ Y tế
Viện Kiểm định Vắc xin và Sinh phẩm Y tế, Bộ Y tế
Bệnh viện Y học cổ truyền Trung ương, Bộ Y tế
Trung tâm Kiểm nghiệm Dược phẩm và Mỹ phẩm Hà Nội
Trung tâm Kiểm nghiệm Dược phẩm và Mỹ phẩm TP. Huế
Trung tâm Kiểm nghiệm Dược phẩm và Mỹ phẩm TP. Hồ Chí Minh
Trung tâm Kiểm nghiệm và nghiên cứu dược, Cục Quân y
Một số doanh nghiệp sản xuất và kinh doanh Dược...

DANH MỤC CÁC CHUYÊN LUẬN

TT	Tên chuyên luận	TT	Tên chuyên luận
1	Acetazolamid	52	Bạch đậu khấu (Quả)
2	Acetylcystein	53	Bạch giới tử
3	Aciclovir	54	Bạch hoa xà thiệt thảo
4	Acid acetylsalicylic	55	Bạch tật lê (Quả)
5	Acid ascorbic	56	Bạch thược (Rễ)
6	Acid benzoic	57	Bạch truật (Thân rễ)
7	Acid boric	58	Bán hạ (Thân rễ)
8	Acid citric ngậm 1 phân tử nước	59	Benzalkonium clorid
9	Acid folic	60	Benzathin benzylpenicilin
10	Acid hydrocloric	61	Benzylpenicilin kali
11	Acid hydrocloric loãng	62	Benzylpenicilin natri
12	Acid mefenamic	63	Berberin clorid
13	Acid nalidixic	64	Betamethason
14	Acid nicotinic	65	Betamethason dipropionat
15	Acid salicylic	66	Betamethason valerat
16	Actisô (Lá)	67	Bìm bìm biếc (Hạt)
17	Adrenalin	68	Bình vôi
18	Adrenalin acid tartrat	69	Biosubtyl
19	Albendazol	70	Biotin
20	Alimemazin tartrat	71	Bisacodyl
21	Alopurinol	72	Bông hút nước
22	Alverin citrat	73	Bông hút nước tiết khuẩn
23	Amikacin	74	Bồ bồ
24	Aminophylin	75	Bồ công anh
25	Amitriptylin hydroclorid	76	Bồ cốt chi (Quả)
26	Amlodipin besilat	77	Bồi mẫu (Thân hành)
27	Amoni clorid	78	Bột bó
28	Amoxicilin trihydrat	79	Bột bình vị
29	Amphotericin B	80	Bột pha tiêm Amoxicilin
30	Ampicilin	81	Bột pha tiêm Ampicilin
31	Ampicilin natri	82	Bột pha tiêm Artesunat
32	Ampicilin trihydrat	83	Bột pha tiêm Benzathin benzylpenicilin
33	Artemether	84	Bột pha tiêm Benzylpenicilin
34	Artemisinin	85	Bột pha tiêm Cefazolin
35	Artesunat	86	Bột pha tiêm Cefotaxim
36	Aspartam	87	Bột pha tiêm Ceftriaxon
37	Atenolol	88	Bột pha tiêm Cloramphenicol
38	Atropin sulfat	89	Bột pha tiêm Streptomycin
39	Azithromycin	90	Bột pha tiêm Vinblastin sulfat
40	Ba kích (Rễ)	91	Bột pha tiêm Vincristin sulfat
41	Bacitracin	92	Bột talc
42	Bari sulfat	93	Bromhexin hydroclorid
43	Bari sulfat pha hỗn dịch	94	Cà độc dược (Hoa)
44	Bá tử nhân	95	Cà độc dược (Lá)
45	Bạc hà	96	Cá ngựa
46	Bạc nitrat	97	Cafein
47	Bạc vitelinat	98	Cải củ (Hạt)
48	Bách bộ (Rễ)	99	Calci carbonat
49	Bách hợp (Thân hành)	100	Calci clorid dihydrat
50	Bạch cập (Thân rễ)	101	Calci gluconat
51	Bạch chỉ (Rễ)	102	Calci gluconat để pha thuốc tiêm

- | | | | |
|-----|-------------------------------|-----|-------------------------------|
| 103 | Calci glycerophosphat | 156 | Cloral hydrat |
| 104 | Calci hydroxyd | 157 | Cloramphenicol |
| 105 | Calci lactat pentahydrat | 158 | Cloramphenicol palmitat |
| 106 | Calci lactat trihydrat | 159 | Cloramphenicol succinat natri |
| 107 | Calci pantothenat | 160 | Cloroform |
| 108 | Calci phosphat | 161 | Cloroquin phosphat |
| 109 | Cam thảo (Rễ) | 162 | Clorpheniramin maleat |
| 110 | Cam thảo nam | 163 | Clorpromazin hydroclorid |
| 111 | Camphor | 164 | Clotrimazol |
| 112 | Cánh kiến trắng | 165 | Cloxacilin natri |
| 113 | Cao bồ phôi | 166 | Cocain hydroclorid |
| 114 | Cao đặc actisô | 167 | Codein |
| 115 | Cao hy thiêm | 168 | Codein phosphat |
| 116 | Cao ích mẫu | 169 | Colecalciferol |
| 117 | Cao lòng hoắc hương chính khí | 170 | Cortison acetat |
| 118 | Cao lòng tứ nghịch | 171 | Cỏ ngọt (Lá) |
| 119 | Cao tang cúc ẩm | 172 | Cỏ nhọ nồi |
| 120 | Captopril | 173 | Cỏ tranh (Thân rễ) |
| 121 | Carbamazepin | 174 | Cỏ xước (Rễ) |
| 122 | Cát cánh (Rễ) | 175 | Cóc mần |
| 123 | Cát sâm (Rễ) | 176 | Cóc tinh thảo |
| 124 | Cau (Hạt) | 177 | Cối xay |
| 125 | Cau (Vỏ quả) | 178 | Cốt khí (Rễ) |
| 126 | Câu đằng | 179 | Cốt toái bồ (Thân rễ) |
| 127 | Câu kỷ tử | 180 | Cơm cháy (Lá) |
| 128 | Cầu tích (Thân rễ) | 181 | Củ chóc (Thân rễ) |
| 129 | Cefaclor | 182 | Củ mài (Củ) |
| 130 | Cefadroxil monohydrat | 183 | Củ súng |
| 131 | Cefazolin natri | 184 | Cúc hoa vàng (Cụm hoa) |
| 132 | Cefixim | 185 | Cyanocobalamin |
| 133 | Cefotaxim natri | 186 | Cyproheptadin hydroclorid |
| 134 | Cefradin | 187 | Dạ cầm |
| 135 | Ceftriaxon natri | 188 | Dành dành (Quả) |
| 136 | Cefuroxim axetil | 189 | Dapson |
| 137 | Cefuroxim natri | 190 | Dâm dương hoắc |
| 138 | Cephalexin | 191 | Dâu (Cành) |
| 139 | Cetirizin hydroclorid | 192 | Dâu (Lá) |
| 140 | Cetostearyl alcol | 193 | Dâu (Quả) |
| 141 | Cetyl alcol | 194 | Dâu (Vỏ rễ) |
| 142 | Chè dây (Lá) | 195 | Dầu mù u |
| 143 | Chè vằng (Lá) | 196 | Dây đau xương (Thân) |
| 144 | Chỉ thực | 197 | Dexamethason |
| 145 | Chỉ xác | 198 | Dexamethason acetat |
| 146 | Chiêu liêu (Vỏ thân) | 199 | Dexamethason natri phosphat |
| 147 | Chymotrypsin | 200 | Dexchlorpheniramin maleat |
| 148 | Cimetidin | 201 | Dexpanthenol |
| 149 | Cinarizin | 202 | Dextromethorphan hydrobromid |
| 150 | Cineol | 203 | Diazepam |
| 151 | Ciprofloxacin hydroclorid | 204 | Dịch truyền Ringer-Lactat |
| 152 | Clarithromycin | 205 | Diclofenac natri |
| 153 | Clavulanat kali | 206 | Dicloxacilin natri |
| 154 | Clindamycin hydroclorid | 207 | Diên hồ sách (Rễ củ) |
| 155 | Clofazimin | 208 | Diếp cá |
| | | 209 | Diệp hạ châu |

- | | | | |
|-----|--------------------------------|-----|--------------------------------|
| 210 | Diệp hạ châu đắng | 264 | Ether mê |
| 211 | Diethyl phtalat | 265 | Ether thường |
| 212 | Dimercaprol | 266 | Ethinylestradiol |
| 213 | Diphenhydramin hydroclorid | 267 | Eugenol |
| 214 | Domperidon maleat | 268 | Famotidin |
| 215 | Doxycyclin hydroclorid | 269 | Fenofibrat |
| 216 | Dung dịch Clorhexidin gluconat | 270 | Flucloxacilin natri |
| 217 | Dung dịch Formaldehyd | 271 | Fluconazol |
| 218 | Dung dịch Glyceryl trinitrat | 272 | Fluocinolon acetonid |
| 219 | Dung dịch Povidon iod | 273 | Fluocinolon acetonid dihydrat |
| 220 | Dừa cạn (Lá) | 274 | Furosemid |
| 221 | Dừa cạn (Rễ) | 275 | Gai (Rễ) |
| 222 | Đại (Hoa) | 276 | Gấc (Áo hạt) |
| 223 | Đại hoàng (Thân rễ) | 277 | Gấc (Hạt) |
| 224 | Đại hồi (Quả) | 278 | Gelatin |
| 225 | Đại phù bình | 279 | Gentamicin sulfat |
| 226 | Đại táo (Quả) | 280 | Glibenclamid |
| 227 | Đạm trúc diệp | 281 | Gliclazid |
| 228 | Đan sâm (Rễ) | 282 | Globulin miễn dịch người |
| 229 | Đào (Hạt) | 283 | Glucosamin hydroclorid |
| 230 | Đảng sâm (Rễ) | 284 | Glucosamin sulfat kali clorid |
| 231 | Đảng sâm Việt Nam (Rễ) | 285 | Glucosamin sulfat natri clorid |
| 232 | Đảng sâm Việt Nam chế | 286 | Glucose khan |
| 233 | Đảng tâm thảo | 287 | Glucose ngâm một phân tử nước |
| 234 | Đậu đen (Hạt) | 288 | Glycerin |
| 235 | Đậu ván trắng (Hạt) | 289 | Glycerol monostearat 40 -55 |
| 236 | Đậu xanh (Hạt) | 290 | Griseofulvin |
| 237 | Địa cốt bì | 291 | Guaifenesin |
| 238 | Địa du (Rễ) | 292 | Gừng (Thân rễ) |
| 239 | Địa hoàng (Rễ) | 293 | Hà thủ ô đỏ (Rễ) |
| 240 | Địa liên (Thân rễ) | 294 | Hà thủ ô trắng (Rễ) |
| 241 | Địa long | 295 | Hạ khô thảo (Cụm quả) |
| 242 | Đinh hương (Nụ hoa) | 296 | Haloperidol |
| 243 | Đinh lăng (Rễ) | 297 | Halothan |
| 244 | Đỗ trọng (Vỏ thân) | 298 | Hậu phác (Vỏ) |
| 245 | Độc hoạt (Rễ) | 299 | Hồ tiêu (Quả) |
| 246 | Độc hoạt ký sinh thang | 300 | Hoắc hương |
| 247 | Đồng sulfat | 301 | Hoàn an thai |
| 248 | Đồng sulfat khan | 302 | Hoàn bát trân |
| 249 | Đơn lá đỏ (Lá) | 303 | Hoàn bát vị |
| 250 | Đương qui (Rễ) | 304 | Hoàn bổ trung ích khí |
| 251 | Đương quy di thực (Rễ) | 305 | Hoàn lục vị |
| 252 | Đường trắng | 306 | Hoàn minh mục địa hoàng |
| 253 | Enalapril maleat | 307 | Hoàn ngân kiều giải độc |
| 254 | Ephedrin hydroclorid | 308 | Hoàn nhị trần |
| 255 | Ergocalciferol | 309 | Hoàn ninh khôn |
| 256 | Erythromycin | 310 | Hoàn phi nhi |
| 257 | Erythromycin ethyl succinat | 311 | Hoàn quy tỳ |
| 258 | Erythromycin stearat | 312 | Hoàn sâm nhung bổ thận |
| 259 | Erythrosin | 313 | Hoàn thập toàn đại bổ |
| 260 | Ethambutol hydroclorid | 314 | Hoàn thiên vương bổ tâm |
| 261 | Ethanol | 315 | Hoàn tiêu dao |
| 262 | Ethanol 96% | 316 | Hoàng bá (Vỏ thân) |
| 263 | (Các) Ethanol loãng | 317 | Hoàng cầm (Rễ) |

- | | | | |
|-----|--------------------------------------|-----|-----------------------------|
| 318 | Hoàng đằng (Thân và rễ) | 372 | Ketoprofen |
| 319 | Hoàng kỳ (Rễ) | 373 | Kha tử (Quả) |
| 320 | Hoàng liên (Thân rễ) | 374 | Khiếm thực (Hạt) |
| 321 | Hoàng nàn (Vỏ thân, vỏ cành) | 375 | Khoản đông hoa |
| 322 | Hoàng tinh (Thân rễ) | 376 | Khổ hạnh nhân |
| 323 | Hoạt thạch | 377 | Khổ sâm (Lá và cành) |
| 324 | Hòe (Nụ hoa) | 378 | Khương hoạt (Thân rễ và rễ) |
| 325 | Hồng hoa (Hoa) | 379 | Kim anh (Quả) |
| 326 | Húng chanh (Lá) | 380 | Kim ngân (Cuộng) |
| 327 | Huyền sâm (Rễ) | 381 | Kim ngân (Hoa) |
| 328 | Huyết giác (Lõi gỗ) | 382 | Kim tiền thảo |
| 329 | Huyết thanh kháng bạch hầu | 383 | Kinh giới |
| 330 | Huyết thanh kháng đại | 384 | Lactose |
| 331 | Huyết thanh kháng nọc rắn | 385 | Lamivudin |
| 332 | Huyết thanh kháng uốn ván | 386 | Lanolin khan |
| 333 | Huyết thanh miễn dịch dùng cho người | 387 | Lá hen |
| 334 | Hương gia bì (Vỏ rễ) | 388 | Lá lốt |
| 335 | Hương nhu | 389 | Lạc tiên |
| 336 | Hương phụ (Thân rễ) | 390 | LevomEPROMAZIN maleat |
| 337 | Hy thiêm | 391 | Levonogestrel |
| 338 | Hydrochlorothiazid | 392 | Levothyroxin natri |
| 339 | Hydrocortison acetat | 393 | Lidocain hydroclorid |
| 340 | Hydroxocobalamin acetat | 394 | Liên kiều (Quả) |
| 341 | Hydroxocobalamin clorid | 395 | Lincomycin hydroclorid |
| 342 | Hydroxocobalamin sulfat | 396 | Long đởm (Rễ và thân rễ) |
| 343 | Hydroxyethylcellulose | 397 | Long nhãn |
| 344 | Hydroxyethylmethylcellulose | 398 | Loperamid hydroclorid |
| 345 | Hydroxypropylcellulose | 399 | Lô hội (Nhựa) |
| 346 | Hyoscin butylbromid | 400 | Lộc nhung |
| 347 | Ibuprofen | 401 | Lức (Lá) |
| 348 | Indomethacin | 402 | Lức (Rễ) |
| 349 | Interferon alpha 2 | 403 | Ma hoàng |
| 350 | Iod | 404 | (Các) Macrogol |
| 351 | Isoniazid | 405 | Magnesi carbonat nặng |
| 352 | Ích mẫu | 406 | Magnesi carbonat nhẹ |
| 353 | Ích trí (Quả) | 407 | Magnesi clorid |
| 354 | Kali bromid | 408 | Magnesi hydroxyd |
| 355 | Kali clorid | 409 | Magnesi oxyd nặng |
| 356 | Kali iodid | 410 | Magnesi oxyd nhẹ |
| 357 | Kali permanganat | 411 | Magnesi stearat |
| 358 | Kaolin nặng | 412 | Magnesi sulfat |
| 359 | Kaolin nhẹ | 413 | Magnesi trisilicat |
| 360 | Kaolin nhẹ thiên nhiên | 414 | Mangiferin |
| 361 | Ké đầu ngựa (Quả) | 415 | Manitol |
| 362 | Kê huyết đằng (Thân) | 416 | Mã đề (Hạt) |
| 363 | Kê nội kim | 417 | Mã đề (Lá) |
| 364 | Kem Aciclovir | 418 | Mã tiền (Hạt) |
| 365 | Kem Clotrimazol | 419 | Mạch môn (Rễ) |
| 366 | Kem Fluocinolon | 420 | Mạch nha |
| 367 | Kem Ketoconazol và Neomycin | 421 | Mai mực |
| 368 | Kem Ketoconazol | 422 | Mạn kinh tử |
| 369 | Kẽm oxyd | 423 | Măng cụt (Vỏ quả) |
| 370 | Kẽm sulfat | 424 | Mâm xôi (Quả) |
| 371 | Ketoconazol | 425 | Mật ong |

- | | | | |
|-----|---------------------------|-----|---|
| 426 | Mẫu đơn bì (Vỏ rễ) | 480 | Nang Ofloxacin |
| 427 | Mẫu lệ | 481 | Nang Omeprazol |
| 428 | Mebendazol | 482 | Nang Paracetamol |
| 429 | Mefloquin hydroclorid | 483 | Nang Piracetam |
| 430 | Meloxicam | 484 | Nang Piroxicam |
| 431 | Menthol | 485 | Nang Rifampicin |
| 432 | Meprobamat | 486 | Nang Rifampicin và isoniasid |
| 433 | Mercurocrom | 487 | Nang Sulpirid |
| 434 | Metformin hydroclorid | 488 | Nang Tetracyclin hydroclorid |
| 435 | DL-Methionin | 489 | Naphazolin nitrat |
| 436 | Methyl parahydroxybenzoat | 490 | Natri benzoat |
| 437 | Methylprednisolon | 491 | Natri bromid |
| 438 | Methylprednisolon acetat | 492 | Natri calci edetat |
| 439 | Methyl salicylat | 493 | Natri camphosulfonat |
| 440 | Methyldopa | 494 | Natri citrat |
| 441 | Metoclopramid | 495 | Natri clorid |
| 442 | Metronidazol | 496 | Natri hydrocarbonat |
| 443 | Miconazol | 497 | Natri salicylat |
| 444 | Miết giáp | 498 | Natri sulfacetamid |
| 445 | Morphin hydroclorid | 499 | Natri sulfat |
| 446 | Mò hoa trắng | 500 | Natri sulfat khan |
| 447 | Mơ muối | 501 | Natri thiopental và natri carbonat |
| 448 | Mộc hương (Rễ) | 502 | Natri thiosulfat |
| 449 | Mộc qua (Quả) | 503 | Neomycin sulfat |
| 450 | Mộc hoa trắng | 504 | Nga truật (Thân rễ) |
| 451 | Mộc tặc | 505 | Ngải cứu |
| 452 | Một dược (Gôm nhựa) | 506 | Nghệ (Thân rễ) |
| 453 | Muồng trâu (Lá) | 507 | Ngọc trúc (Thân rễ) |
| 454 | Nang Acetylcystein | 508 | Ngô công |
| 455 | Nang Alverin | 509 | Ngô thù du (Quả) |
| 456 | Nang Amoxicilin | 510 | Ngũ bội tử |
| 457 | Nang Ampicilin | 511 | Ngũ gia bì chân chim (Vỏ thân, vỏ cành) |
| 458 | Nang Artemether | 512 | Ngũ gia bì gai (Vỏ rễ, vỏ thân) |
| 459 | Nang Artemisinin | 513 | Ngũ vị tử |
| 460 | Nang Azithromycin | 514 | Nguru bàng (Quả) |
| 461 | Nang Cefaclor | 515 | Nguru tât (Rễ) |
| 462 | Nang Cefadroxil | 516 | Nha đam tử |
| 463 | Nang Cefradin | 517 | Nhàu (Quả) |
| 464 | Nang Cephalixin | 518 | Nhàu (Rễ) |
| 465 | Nang Clarithromycin | 519 | Nhân sâm (Rễ) |
| 466 | Nang Clindamycin | 520 | Nhân trần |
| 467 | Nang Cloramphenicol | 521 | Nhân trần tía |
| 468 | Nang Cloxacilin | 522 | Nhôm hydroxyd khô |
| 469 | Nang Doxycyclin | 523 | Nhôm phosphat khô |
| 470 | Nang Erythromycin stearat | 524 | Nhũ hương (Gôm nhựa) |
| 471 | Nang Fluconazol | 525 | Nhục đậu khấu (Hạt) |
| 472 | Nang Indomethacin | 526 | Nhục thung dung (Thân) |
| 473 | Nang Ketoprofen | 527 | Niclosamid monohydrat |
| 474 | Nang Lincomycin | 528 | Nicotinamid |
| 475 | Nang Loperamid | 529 | Nifedipin |
| 476 | Nang mềm Vitamin A | 530 | Nikethamid |
| 477 | Nang mềm Vitamin A và D | 531 | Nitrofurantoin |
| 478 | Nang mềm Vitamin E | 532 | Norfloxacin |
| 479 | Nang mềm Progesteron | 533 | Núc nác (Vỏ thân) |

- | | | | |
|-----|--------------------------------|-----|-----------------------------------|
| 534 | Nước cất | 588 | Propylthiouracil |
| 535 | Nước để pha thuốc tiêm | 589 | Pyrantel pamoat |
| 536 | Nước oxy già đậm đặc | 590 | Pyrazinamid |
| 537 | Nước oxy già loãng 10% | 591 | Pyridoxin hydroclorid |
| 538 | Nước oxy già loãng 3 % | 592 | Pyrimethamin |
| 539 | Nước tinh khiết | 593 | Quả lâu (Hạt) |
| 540 | Nước vô khuẩn để tiêm | 594 | Quả lâu (Quả) |
| 541 | Nystatin | 595 | Quế (Cành) |
| 542 | Ofloxacin | 596 | Quế (Vỏ thân, vỏ cành) |
| 543 | Omeprazol | 597 | Qui giáp và qui bản |
| 544 | Oresol | 598 | Quinin bisulfat |
| 545 | Oxygen | 599 | Quinin dihydroclorid |
| 546 | Oxymetazolin hydroclorid | 600 | Quinin hydroclorid |
| 547 | Oxytetracyclin dihydrat | 601 | Quinin sulfat |
| 548 | Ô đầu (Rễ củ) | 602 | Ranitidin hydroclorid |
| 549 | Ô dước (Rễ) | 603 | Rau má |
| 550 | Papaverin hydroclorid | 604 | Rau sam |
| 551 | Paracetamol | 605 | Râu mèo |
| 552 | Pepsin | 606 | Rẻ quạt (Thân rễ) |
| 553 | Pethidin hydroclorid | 607 | Retinol tổng hợp đậm đặc dạng bột |
| 554 | Phenobarbital | 608 | Retinol tổng hợp đậm đặc dạng dầu |
| 555 | Phenol | 609 | Riboflavin |
| 556 | Phenoxymethylpenicilin | 610 | Riboflavin natri phosphat |
| 557 | Phenoxymethylpenicilin kali | 611 | Riềng (Thân rễ) |
| 558 | Phenylpropanolamin hydroclorid | 612 | Rifampicin |
| 559 | Phenytoin | 613 | Rong mơ |
| 560 | Phòng kỷ | 614 | Rotundin |
| 561 | Phòng phong (Rễ) | 615 | Roxithromycin |
| 562 | Phthalylsulfathiazol | 616 | Rutin |
| 563 | Phụ tử | 617 | Sa nhân (Quả) |
| 564 | Phục linh | 618 | Sa sâm (Rễ) |
| 565 | Phytomenadion | 619 | Salbutamol |
| 566 | Pilocarpin nitrat | 620 | Sài đất |
| 567 | Piperazin adipat | 621 | Sài hồ (Rễ) |
| 568 | Piperazin citrat | 622 | Sáp ong trắng |
| 569 | Piperazin hydrat | 623 | Sáp ong vàng |
| 570 | Piperazin phosphat | 624 | Sâm bồ chính (Rễ) |
| 571 | Piracetam | 625 | Sâm cau (Thân rễ) |
| 572 | Piroxicam | 626 | Sâm đại hành (Thân hành) |
| 573 | Polysorbat 20 | 627 | Sâm Việt Nam (Thân rễ và rễ) |
| 574 | Polysorbat 60 | 628 | Sắn dây (Rễ củ) |
| 575 | Polysorbat 80 | 629 | Sắt fumarat |
| 576 | Povidon | 630 | Sắt oxyd |
| 577 | Povidon iod | 631 | Sắt (II) sulfat |
| 578 | Praziquantel | 632 | Sắt (II) sulfat khô |
| 579 | Prednisolon | 633 | Sen (Hạt) |
| 580 | Prednison | 634 | Sen (Lá) |
| 581 | Primaquin diphosphat | 635 | Sen (Cây mầm) |
| 582 | Procain hydroclorid | 636 | Sorbitol |
| 583 | Procainamid hydroclorid | 637 | Sơn thù (Quả) |
| 584 | Progesteron | 638 | Sơn tra (Quả) |
| 585 | Promethazin hydroclorid | 639 | Sparteín sulfat |
| 586 | Propranolol hydroclorid | 640 | Spectinomycin hydroclorid |
| 587 | Propyl parahydroxybenzoat | 641 | Spiramycin |

- | | | | |
|-----|-------------------------------|-----|--|
| 642 | Stearyl alcol | 696 | Thuốc bột Sorbitol |
| 643 | Streptomycin sulfat | 697 | Thuốc giọt Nikethamid |
| 644 | Strychnin sulfat | 698 | Thuốc mỡ Acid boric 10% |
| 645 | Sulfadiazin | 699 | Thuốc mỡ Benzosalin |
| 646 | Sulfadimidin | 700 | Thuốc mỡ Hydrocortison acetat |
| 647 | Sulfadoxin | 701 | Thuốc mỡ Kẽm oxyd |
| 648 | Sulfaguanidin | 702 | Thuốc mỡ Nystatin |
| 649 | Sulfamethoxazol | 703 | Thuốc mỡ tra mắt Tetracyclin hydroclorid |
| 650 | Sulfamethoxypyridazin | 704 | Thuốc nhỏ mắt Ciprofloxacin |
| 651 | Sulfathiazol | 705 | Thuốc nhỏ mắt Cloramphenicol |
| 652 | Sulpirid | 706 | Thuốc nhỏ mắt Gentamycin |
| 653 | Tam thất (Rễ củ) | 707 | Thuốc nhỏ mắt Hydrocortison và neomycin |
| 654 | Tang ký sinh | 708 | Thuốc nhỏ mắt Kẽm sulfat |
| 655 | Tartrazin | 709 | Thuốc nhỏ mắt Natri clorid 0,9 % |
| 656 | Táo (Hạt) | 710 | Thuốc nhỏ mắt Neomycin |
| 657 | Tắc kè | 711 | Thuốc nhỏ mắt Ofloxacin |
| 658 | Tầm vôi | 712 | Thuốc nhỏ mũi Oxymetazolin |
| 659 | Tầm gửi | 713 | Thuốc nhỏ mũi Xylometazolin |
| 660 | Tần giao (Rễ) | 714 | Thuốc tiêm Acid ascorbic |
| 661 | Tất bát (Quả) | 715 | Thuốc tiêm Adrenalin |
| 662 | Tenoxicam | 716 | Thuốc tiêm Aminophylin |
| 663 | Terfenadin | 717 | Thuốc tiêm Atropin sulfat |
| 664 | Terpin hydrat | 718 | Thuốc tiêm Cafein và natri benzoat |
| 665 | Tetracain hydroclorid | 719 | Thuốc tiêm Calci clorid 10% |
| 666 | Tetracyclin hydroclorid | 720 | Thuốc tiêm Calci gluconat |
| 667 | Tế tân | 721 | Thuốc tiêm Clorpromazin hydroclorid |
| 668 | Thạch cao | 722 | Thuốc tiêm Cyanocobalamin |
| 669 | Thạch học (Thân) | 723 | Thuốc tiêm Dexamethason |
| 670 | Than hoạt tính | 724 | Thuốc tiêm Diclofenac natri |
| 671 | Thanh cao hoa vàng (Lá) | 725 | Thuốc tiêm Ephedrin hydroclorid |
| 672 | Thanh hao | 726 | Thuốc tiêm Gentamycin |
| 673 | Thảo quả (Quả) | 727 | Thuốc tiêm Glucose |
| 674 | Thảo quyết minh (Hạt) | 728 | Thuốc tiêm Hydrocortison acetat |
| 675 | Thăng ma (Thân rễ) | 729 | Thuốc tiêm Hydroxocobalamin |
| 676 | Theophylin | 730 | Thuốc tiêm Kali clorid |
| 677 | Thị đế | 731 | Thuốc tiêm Lidocain |
| 678 | Thiamin hydroclorid | 732 | Thuốc tiêm Lincomycin |
| 679 | Thiamin nitrat | 733 | Thuốc tiêm Methylprednisolon acetat |
| 680 | Thiên ma (Thân rễ) | 734 | Thuốc tiêm Morphin hydroclorid |
| 681 | Thiên môn đông (Rễ) | 735 | Thuốc tiêm Natri bicarbonat |
| 682 | Thiên niên kiện (Thân rễ) | 736 | Thuốc tiêm Natri clorid |
| 683 | Thiên trúc hoàng | 737 | Thuốc tiêm Procain hydroclorid |
| 684 | Thỏ ty tử | 738 | Thuốc tiêm Progesteron |
| 685 | Thỏ hoàng liên (Thân rễ) | 739 | Thuốc tiêm Pyridoxin hydroclorid |
| 686 | Thỏ phục linh (Thân rễ) | 740 | Thuốc tiêm Quinin dihydroclorid |
| 687 | Thông thảo (Lõi thân) | 741 | Thuốc tiêm Spartein sulfat |
| 688 | Thục địa | 742 | Thuốc tiêm Thiamin hydroclorid |
| 689 | Thuốc bột Acetylcystein | 743 | Thuốc tiêm truyền Glucose |
| 690 | Thuốc bột Aspartam | 744 | Thuốc tiêm truyền Metronidazol |
| 691 | Thuốc bột Azithromycin | 745 | Thuốc tiêm truyền Natri clorid đẳng trương |
| 692 | Thuốc bột Cefadroxil | 746 | Thuyền thoái |
| 693 | Thuốc bột Cephalexin | 747 | Thương lục (Rễ củ) |
| 694 | Thuốc bột Natri hydrocarbonat | 748 | Thương truật |
| 695 | Thuốc bột Roxithromycin | 749 | Tía tô (Lá) |

- | | | | |
|-----|---|-----|--|
| 750 | Tía tô (Quả) | 803 | Vắc xin viêm gan B tái tổ hợp (rDNA) |
| 751 | Tía tô (Thân) | 804 | Vắc xin viêm não Nhật Bản |
| 752 | Tiền hồ (Rễ) | 805 | Viên đặt Nystatin |
| 753 | Tiểu hồi (Quả) | 806 | Viên đặt Paracetamol |
| 754 | Timolol maleat | 807 | Viên nén Acetazolamid |
| 755 | Tinh bột | 808 | Viên nén Aciclovir |
| 756 | Tinh dầu Bạc hà | 809 | Viên nén Acid acetylsalicylic |
| 757 | Tinh dầu Bạch đàn | 810 | Viên nén Acid ascorbic |
| 758 | Tinh dầu Hồi | 811 | Viên nén Acid folic |
| 759 | Tinh dầu Hương nhu trắng | 812 | Viên nén Acid mefenamic |
| 760 | Tinh dầu Long não | 813 | Viên nén Acid nalidixic |
| 761 | Tinh dầu Quế | 814 | Viên nén Albendazol |
| 762 | Tinh dầu Tràm | 815 | Viên nén Alimemazin |
| 763 | Tinidazol | 816 | Viên nén Alopurinol |
| 764 | Titan dioxyd | 817 | Viên nén Aminophylin |
| 765 | Toàn yết | 818 | Viên nén Amoxicilin |
| 766 | Tobramycin | 819 | Viên nén Amoxicilin và acid clavulanic |
| 767 | All-Rac-Alpha Tocopherol | 820 | Viên nén Artemether |
| 768 | All-Rac-Alpha Tocopherol acetat | 821 | Viên nén Artemisinin |
| 769 | Tỏi (Căn hành) | 822 | Viên nén Artesunat |
| 770 | Tolbutamid | 823 | Viên nén Atenolol |
| 771 | Tô mộc (Gỗ) | 824 | Viên nén Atropin sulfat |
| 772 | Trạch tả (Thân rễ) | 825 | Viên nén Berberin clorid |
| 773 | Tràm (Cành, lá) | 826 | Viên nén Betamethason |
| 774 | Trắc bách diệp | 827 | Viên nén Biotin |
| 775 | Trần bì | 828 | Viên nén Bisacodyl |
| 776 | Tri mẫu (Thân rễ) | 829 | Viên nén Bromhexin hydroclorid |
| 777 | Trihexyphenidyl hydroclorid | 830 | Viên nén Calci và Vitamin D |
| 778 | Trimethoprim | 831 | Viên nén Captopril |
| 779 | Tuberculin PPD | 832 | Viên nén Carbamazepin |
| 780 | Tục đoạn (Rễ) | 833 | Viên nén Cefadroxil |
| 781 | Tử uyển (Rễ) | 834 | Viên nén Cefixim |
| 782 | Tỳ bà (Lá) | 835 | Viên nén Cefuroxim |
| 783 | Tỳ giải (Thân rễ) | 836 | Viên nén Cetirizin |
| 784 | Uy linh tiên (Rễ) | 837 | Viên nén Cephalexin |
| 785 | Vancomycin hydroclorid | 838 | Viên nén Chymotrypsin |
| 786 | Vanilin | 839 | Viên nén Cimetidin |
| 787 | Vaselin | 840 | Viên nén Cinarizin |
| 788 | Vàng đắng (Thân) | 841 | Viên nén Ciprofloxacin |
| 789 | Vắc xin bạch hầu hấp phụ | 842 | Viên nén Clarithromycin |
| 790 | Vắc xin bạch hầu, uốn ván hấp phụ dùng cho người lớn và vị thành niên | 843 | Viên nén Cloramphenicol |
| 791 | Vắc xin bạch hầu-uốn ván-ho gà hấp phụ (DTwP) | 844 | Viên nén Cloroquin phosphat |
| 792 | Vắc xin bại liệt bất hoạt (IPV) | 845 | Viên nén Clorpheniramin |
| 793 | Vắc xin bại liệt uống | 846 | Viên nén Clorpromazin hydroclorid |
| 794 | Vắc xin BCG | 847 | Viên nén Cotrimoxazol |
| 795 | Vắc xin đại tể bào dùng cho người | 848 | Viên nén Cyproheptadin hydroclorid |
| 796 | (Các) Vắc xin dùng cho người | 849 | Viên nén Dexamethason |
| 797 | Vắc xin sởi | 850 | Viên nén Dexchlorpheniramin |
| 798 | Vắc xin tả uống bất hoạt | 851 | Viên nén Dexpanthenol |
| 799 | Vắc xin thương hàn uống | 852 | Viên nén Dextromethorphan hydrobromid |
| 800 | Vắc xin thương hàn Vi polysaccharid | 853 | Viên nén Diazepam |
| 801 | Vắc xin uốn ván hấp phụ | 854 | Viên nén Diclofenac |
| 802 | Vắc xin viêm gan B điều chế từ huyết tương người | 855 | Viên nén Domperidon |
| | | 856 | Viên nén đặt âm đạo Clotrimazol |

- | | | | |
|-----|--|-----|---|
| 857 | Viên nén Enalapril | 907 | Viên nén Phthalylsulfathiazol |
| 858 | Viên nén Ephedrin hydroclorid | 908 | Viên nén Phytomenadion |
| 859 | Viên nén Erythromycin | 909 | Viên nén Piroxicam |
| 860 | Viên nén Erythromycin stearat | 910 | Viên nén Praziquantel |
| 861 | Viên nén Ethambutol | 911 | Viên nén Prednisolon |
| 862 | Viên nén Ethambutol hydroclorid và Isoniazid | 912 | Viên nén Primaquin diphosphat |
| 863 | Viên nén Famotidin | 913 | Viên nén Promethazin hydroclorid |
| 864 | Viên nén Furosemid | 914 | Viên nén Propranolol |
| 865 | Viên nén Gliclazid | 915 | Viên nén Propylthiouracil |
| 866 | Viên nén Glucosamin | 916 | Viên nén Pyrantel pamoat |
| 867 | Viên nén Griseofulvin | 917 | Viên nén Pyrazinamid |
| 868 | Viên nén Haloperidol | 918 | Viên nén Pyridoxin hydroclorid |
| 869 | Viên nén Hydrochlorothiazid | 919 | Viên nén Quinin sulfat |
| 870 | Viên nén Ibuprofen | 920 | Viên nén Ranitidin |
| 871 | Viên nén Indomethacin | 921 | Viên nén Riboflavin |
| 872 | Viên nén Isoniazid | 922 | Viên nén Rifampicin |
| 873 | Viên nén Kali clorid | 923 | Viên nén Rotundin |
| 874 | Viên nén Ketoconazol | 924 | Viên nén Roxithromycin |
| 875 | Viên nén Lamivudin | 925 | Viên nén Rutin |
| 876 | Viên nén Levomepromazin | 926 | Viên nén Rutin và Acid ascorbic |
| 877 | Viên nén Levonorgestrel | 927 | Viên nén Salbutamol |
| 878 | Viên nén Levothyrosin | 928 | Viên nén Sắt fumarat và Acid folic |
| 879 | Viên nén Loperamid | 929 | Viên nén Sắt (II) sulfat |
| 880 | Viên nén Magnesi - B ₆ | 930 | Viên nén Spiramycin |
| 881 | Viên nén Magnesi - Nhôm hydroxyd | 931 | Viên nén Sulfadoxin và Pyrimethamin |
| 882 | Viên nén Mebendazol | 932 | Viên nén Sulfaguanidin |
| 883 | Viên nén Mefloquin | 933 | Viên nén Sulfamethoxazol |
| 884 | Viên nén Meloxicam | 934 | Viên nén Tenoxicam |
| 885 | Viên nén Metformin | 935 | Viên nén Tetracyclin hydroclorid |
| 886 | Viên nén Methionin | 936 | Viên nén Theophylin |
| 887 | Viên nén Methyl dopa | 937 | Viên nén Thiamin |
| 888 | Viên nén Methylprednisolon | 938 | Viên nén Tinidazol |
| 889 | Viên nén Metronidazol | 939 | Viên nén Tolbutamid |
| 890 | Viên nén Metronidazol và Nystatin | 940 | Viên nén Trihexyphenidyl |
| 891 | Viên nén Natri thiosulfat | 941 | Viên nén Vitamin B ₁ , B ₆ và B ₁₂ |
| 892 | Viên nén Niclosamid | 942 | Viên sủi Paracetamol |
| 893 | Viên nén Nicotinamid | 943 | Viên chí (Rễ) |
| 894 | Viên nén Nifedipin | 944 | Vinblastin sulfat |
| 895 | Viên nén Norfloxacin | 945 | Vincristin sulfat |
| 896 | Viên nén Nystatin | 946 | Vông nem (Lá) |
| 897 | Viên nén Ofloxacin | 947 | Xà sàng (Quả) |
| 898 | Viên nén Papaverin hydroclorid | 948 | Xích thược (Rễ) |
| 899 | Viên nén Paracetamol | 949 | Xuyên khung (Thân rễ) |
| 900 | Viên nén Paracetamol và Cafein | 950 | Xuyên sơn giáp |
| 901 | Viên nén Paracetamol và Clorpheniramin | 951 | Xuyên tiêu (Quả) |
| 902 | Viên nén Paracetamol và Codein phosphat | 952 | Xương bồ |
| 903 | Viên nén Penicilin V | 953 | Xylometazolin hydroclorid |
| 904 | Viên nén Penicilin V kali | 954 | Ý dĩ (Hạt) |
| 905 | Viên nén Phenobarbital | 955 | Zidovudin |
| 906 | Viên nén Phenytoin | | |

DANH MỤC CÁC CHUYÊN LUẬN MỚI SO VỚI ĐBVN III

TT Nguyên liệu hoá dược

- 1 Acetazolamid
- 2 Acetylcystein
- 3 Acid folic
- 4 Acid mefenamic
- 5 Acid nalidixic
- 6 Alimemazin tartrat
- 7 Alopurinol
- 8 Alverin citrat
- 9 Amikacin
- 10 Amitriptylin hydroclorid
- 11 Amlodipin besilat
- 12 Amphotericin B
- 13 Ampicilin natri
- 14 Artemether
- 15 Aspartam
- 16 Atenolol
- 17 Azithromycin
- 18 Bacitracin
- 19 Benzalkonium clorid
- 20 Benzathin benzylpenicilin
- 21 Betamethason
- 22 Betamethason dipropionat
- 23 Biotin
- 24 Bisacodyl
- 25 Bromhexin hydroclorid
- 26 Captopril
- 27 Carbamazepin
- 28 Cefadroxil monohydrat
- 29 Cefazolin natri
- 30 Cefixim
- 31 Cefotaxim natri
- 32 Cefradin
- 33 Ceftriaxon natri
- 34 Cefuroxim axetil
- 35 Cefuroxim natri
- 36 Cetirizin hydroclorid
- 37 Cetostearyl alcol
- 38 Cetyl alcol
- 39 Chymotrypsin
- 40 Cinarizin
- 41 Clarithromycin
- 42 Clavulanat kali
- 43 Clofazimin
- 44 Clotrimazol
- 45 Cyproheptadin hydroclorid
- 46 Dexchlorpheniramin maleat

TT Nguyên liệu hoá dược

- 47 Dicloxacilin natri
- 48 Diphenhydramin hydroclorid
- 49 Domperidon maleat
- 50 Dung dịch clorhexidin gluconat
- 51 Erythromycin
- 52 Erythromycin ethyl succinat
- 53 Erythrosin
- 54 Ethinyl estradiol
- 55 Fenofibrat
- 56 Flucloxacilin natri
- 57 Fluconazol
- 58 Glibenclamid
- 59 Glucilazid
- 60 Glucosamin hydroclorid
- 61 Glucosamin sulfat kali clorid
- 62 Glucosamin sulfat natri clorid
- 63 Glycerol monostearat 40 - 50
- 64 Guaifenesin
- 65 Halothan
- 66 Hydroxyethylcellulose
- 67 Hydroxyethylmethylcellulose
- 68 Hydroxypropylcellulose
- 69 Hyoscin butylbromid
- 70 Ketoconazol
- 71 Ketoprofen
- 72 Lamivudin
- 73 Levomepromazin maleat
- 74 Levonogestrel
- 75 Loperamid hydroclorid
- 76 Các macrogol
- 77 Magiferin
- 78 Mefloquin hydroclorid
- 79 Meloxicam
- 80 Metformin hydroclorid
- 81 Methyl parahydroxybenzoat
- 82 Methyldopa
- 83 Methylprednisolon
- 84 Methylprednisolon acetat
- 85 Metoclopramid
- 86 Miconazol
- 87 Neomycin sulfat
- 88 Niclosamid monohydrat
- 89 Nifedipin
- 90 Nitrofurantoin
- 91 Norfloxacin
- 92 Ofloxacin

- 93 Omeprazol
- 94 Oxymetazolin hydroclorid
- 95 Oxytetracyclin dihydrat
- 96 Phenylpropanolamin hydroclorid
- 97 Piracetam
- 98 Polysorbat 20
- 99 Polysorbat 60
- 100 Polysorbat 80
- 101 Povidon
- 102 Povidon iod
- 103 Praziquantel
- 104 Prednison
- 105 Propranolol hydroclorid
- 106 Propyl parahydroxybenzoat
- 107 Propylthiouracil
- 108 Pyrantel pamoat
- 109 Quinin dihydroclorid
- 110 Riboflavin natri phosphat

TT Thành phẩm hoá dược

- 1 Bột pha tiêm Benzathin' benzylpenicilin
- 2 Bột pha tiêm Cefazolin
- 3 Bột pha tiêm Cefotaxim
- 4 Bột pha tiêm Ceftriaxon
- 5 Bột pha tiêm Vinblastin sulfat
- 6 Bột pha tiêm Vincristin sulfat
- 7 Dịch truyền Ringer - lactat
- 8 Dung dịch Povidon iod
- 9 Kem Aciclovir
- 10 Kem Clotrimazol
- 11 Kem Fluocinolon
- 12 Kem Ketoconazol
- 13 Kem bôi da Ketoconazol và Neomycin
- 14 Nang Acetylcystein
- 15 Nang Artemether
- 16 Nang Azithromycin
- 17 Nang Cefadroxil
- 18 Nang Cephradin
- 19 Nang Clarithromycin
- 20 Nang Clindamycin
- 21 Nang Fluconazol
- 22 Nang Ketoprofen
- 23 Nang Loperamid
- 24 Nang Ofloxacin
- 25 Nang Omeprazol
- 26 Nang Piracetam
- 27 Nang Rifampicin và Isoniasid
- 28 Nang Sulpirid
- 29 Nang mềm Progesteron

- 111 Roxithromycin
- 112 Sắt oxyd
- 113 Spectinomycin hydroclorid
- 114 Stearyl alcol
- 115 Sulpirid
- 116 Tartrazin
- 117 Tenoxicam
- 118 Terfenadin
- 119 Timolol maleat
- 120 Tinidazol
- 121 Titan dioxyd
- 122 Tobramycin
- 123 Tolbutamid
- 124 Trihexyphenidyl hydroclorid
- 125 Vancomycin hydroclorid
- 126 Xylometazolin hydroclorid
- 127 Zidovudin

TT Thành phẩm hoá dược

- 30 Nang mềm Vitamin E
- 31 Nang mềm Vitamin A và Vitamin D
- 32 Thuốc bột Acetylcystein
- 33 Thuốc bột Aspartam
- 34 Thuốc bột Azithromycin
- 35 Thuốc bột Bari sulfat pha hỗn dịch
- 36 Thuốc bột Cefadroxil
- 37 Thuốc bột Cephalixin
- 38 Thuốc bột Natri hydrocarbonat
- 39 Thuốc bột Roxithromycin
- 40 Thuốc bột Sorbitol
- 41 Thuốc giọt Nikethamid
- 42 Thuốc mỡ Hydrocortison acetat
- 43 Thuốc mỡ Nystatin
- 44 Thuốc mỡ tra mắt Tetracyclin hydroclorid
- 45 Thuốc nhỏ mắt Ciprofloxacin
- 46 Thuốc nhỏ mắt Gentamycin
- 47 Thuốc nhỏ mắt Hydrocortison và Neomycin
- 48 Thuốc nhỏ mắt Natri clorid 0,9 %
- 49 Thuốc nhỏ mắt Neomycin
- 50 Thuốc nhỏ mắt Ofloxacin
- 51 Thuốc nhỏ mũi Oxymetazolin
- 52 Thuốc nhỏ mũi Xylometazolin
- 53 Thuốc tiêm Aminophylin
- 54 Thuốc tiêm Amoxicilin
- 55 Thuốc tiêm Calci gluconat
- 56 Thuốc tiêm Cloramphenicol
- 57 Thuốc tiêm Diclofenac

- | | | | |
|-----|---|-----|-------------------------------------|
| 58 | Thuốc tiêm Hydrocortison acetat | 104 | Viên nén Dexpanthenol |
| 59 | Thuốc tiêm Hydroxocobalamin | 105 | Viên nén Domperidon |
| 60 | Thuốc tiêm Kali clorid | 106 | Viên nén Enalapril maleat |
| 61 | Thuốc tiêm Methylprednisolon acetat | 107 | Viên nén Ethambutol |
| 62 | Thuốc tiêm Natri clorid | 108 | Viên nén Gliclazid |
| 63 | Thuốc tiêm Progesteron | 109 | Viên nén Glucozamin |
| 64 | Thuốc tiêm Spartein sulfat | 110 | Viên nén Haloperidol |
| 65 | Thuốc tiêm Streptomycin | 111 | Viên nén Hydroclothiazid |
| 66 | Thuốc tiêm truyền Metronidazol | 112 | Viên nén Kali clorid |
| 67 | Viên đặt Nystatin | 113 | Viên nén Ketoconazol |
| 68 | Viên đặt Paracetamol | 114 | Viên nén Lamivudin |
| 69 | Viên nén Calci và Vitamin D | 115 | Viên nén Levomepromazin |
| 70 | Viên nén Ethambutol và Isoniasid | 116 | Viên nén Levonogestrel |
| 71 | Viên nén Paracetamol và Cafein | 117 | Viên nén Levothyrosin |
| 72 | Viên nén Paracetamol và Chlopheniramin | 118 | Viên nén Loperamid |
| 73 | Viên nén Sắt fumarat và Acid folic | 119 | Viên nén Magnesi - B ₆ |
| 74 | Viên nén Vitamin B ₁ , B ₆ và B ₁₂ | 120 | Viên nén Mefloquin |
| 75 | Viên nén (Alpha) Chymotrypsin | 121 | Viên nén Meloxicam |
| 76 | Viên nén Acetazolamid | 122 | Viên nén Metformin |
| 77 | Viên nén Aciclovir | 123 | Viên nén Methyldopa |
| 78 | Viên nén Acid folic | 124 | Viên nén Methylprednisolon |
| 79 | Viên nén Acid mefenamic | 125 | Viên nén Metronidazol và Nystatin |
| 80 | Viên nén Acid nalidixic | 126 | Viên nén Natri thiosulfat |
| 81 | Viên nén Alimemazin | 127 | Viên nén Niclosamid |
| 82 | Viên nén Allopurinol | 128 | Viên nén Nifedipin |
| 83 | Viên nén Alverin | 129 | Viên nén Norfloxacin |
| 84 | Viên nén Aminophylin | 130 | Viên nén Ofloxacin |
| 85 | Viên nén Amoxicilin và Acid clavulanic | 131 | Viên nén Paracetamol và Codein |
| 86 | Viên nén Artemether | 132 | Viên nén Phenytoin |
| 87 | Viên nén Atenolol | 133 | Viên nén Phytomenadion |
| 88 | Viên nén Atropin sulphat | 134 | Viên nén Praziquantel |
| 89 | Viên nén Betamethason | 135 | Viên nén Primaquin |
| 90 | Viên nén Biotin | 136 | Viên nén Propranolol |
| 91 | Viên nén Bisacodyl | 137 | Viên nén Propylthiouracil |
| 92 | Viên nén Bromhexin | 138 | Viên nén Pyrantel pamoat |
| 93 | Viên nén Carbamazepin | 139 | Viên nén Ranitidin |
| 94 | Viên nén Catopril | 140 | Viên nén Roxithromycin |
| 95 | Viên nén Cefadroxil | 141 | Viên nén Rutin và Acid ascorbic |
| 96 | Viên nén Cefixim | 142 | Viên nén Sắt II sulfat |
| 97 | Viên nén Cefuroxim | 143 | Viên nén Sulfadoxin và Pyrimethamin |
| 98 | Viên nén Cetirizin | 144 | Viên nén Tenoxicam |
| 99 | Viên nén Cinarizin | 145 | Viên nén Tinidazol |
| 100 | Viên nén Clarithromycin | 146 | Viên nén Tolbutamid |
| 101 | Viên nén đặt âm đạo Clotrimazol | 147 | Viên nén Trihexyphenidyl |
| 102 | Viên nén Cyproheptadin | 148 | Viên sủi Paracetamol |
| 103 | Viên nén Dexchlorpheniramin maleat | | |

TT Vắc xin và sinh phẩm y tế

- 1 Biosubtyl
- 2 Globulin miễn dịch người
- 3 Huyết thanh kháng nọc rắn
- 4 Interferon Alpha 2
- 5 Tuberculin PPD
- 6 Vắc xin bạch hầu, uốn ván hấp phụ dùng cho người lớn và vị thành niên

TT Dược liệu

- 1 Bạch hoa xà thiệt thảo
- 2 Bìm bìm biếc (Hạt)
- 3 Cà độc dược (Lá)
- 4 Cam thảo nam
- 5 Cau (Hạt)
- 6 Cỏ ngọt (Lá)
- 7 Cóc mần
- 8 Cơm cháy (Rễ)
- 9 Chè dây (Lá)
- 10 Chè vằng (Lá)
- 11 Chiêu liêu (Vỏ thân)
- 12 Củ chóc (Thân rễ)
- 13 Dầu mù u
- 14 Diệp hạ châu đắng
- 15 Dừa cạn (Rễ)
- 16 Đảng sâm Việt Nam (Rễ)
- 17 Đảng sâm Việt Nam chế
- 18 Đậu đen (Hạt)
- 19 Đậu xanh (Hạt)
- 20 Địa long
- 21 Đinh lăng (Rễ)
- 22 Đơn lá đỏ (Lá)
- 23 Gấc (Áo hạt)
- 24 Hà thủ ô trắng (Rễ)

TT Vắc xin và sinh phẩm y tế

- 7 Vắc xin bại liệt bất hoạt (IPV)
- 8 Vắc xin đại tể bào dùng cho người
- 9 Vắc xin sởi
- 10 Vắc xin tả uống bất hoạt
- 11 Vắc xin thương hàn uống
- 12 Vắc xin thương hàn Vi Polysaccharid
- 13 Vắc xin viêm gan B tái tổ hợp (rDNA)

TT Dược liệu

- 25 Hoàng liên (Thân rễ)
- 26 Hoàng nàn (Vỏ thân, vỏ cành)
- 27 Hương gia bì (Vỏ rễ)
- 28 Khổ sâm (Lá)
- 29 Kim ngân (Cuộng)
- 30 Lá hen
- 31 Lúc (Lá)
- 32 Măng cụt (Vỏ quả)
- 33 Mâm xôi (Quả)
- 34 Mộc hoa trắng
- 35 Ngô công
- 36 Nhàu (Rễ)
- 37 Nhàu (Quả)
- 38 Núc nác (Vỏ)
- 39 Phòng phong (Rễ)
- 40 Quế (Cành)
- 41 Rau sam
- 42 Sâm cau (Thân rễ)
- 43 Thanh cao hoa vàng (Lá)
- 44 Thương lục (Rễ củ)
- 45 Tầm gửi
- 46 Toàn yết
- 47 Xuyên sơn giáp

Các chuyên luận thay thế

Hương nhu: Thay thế Hương nhu trắng và Hương nhu tía

Xương bồ: Thay thế Thủy xương bồ và Thạch xương bồ

Bối mẫu: Thay thế Triết bối mẫu và Xuyên bối mẫu

TT Tên phụ lục

- 1 Phụ lục 1.5 Hỗn dịch thuốc
- 2 Phụ lục 1.6 Nhũ tương thuốc
- 3 Phụ lục 1.9 Thuốc dán thấm qua da và thuốc dán tác dụng tại chỗ.
- 4 Phụ lục 1.16 Thuốc nhỏ tai và thuốc xịt vào tai
- 5 Phụ lục 1.17 Thuốc hít

- 6 Phụ lục 1.18 Thuốc khí dung
- 7 Phụ lục 1.21 Thuốc bột y tế
- 8 Phụ lục 1.24 Chè thuốc
- 9 Phụ lục 3.2 Nhiệt kế
- 10 Phụ lục 5.5 Phương pháp sắc ký rây phân tử
- 11 Phụ lục 5.6 Phương pháp điện di
- 12 Phụ lục 5.7 Phương pháp điện di mao quản
- 13 Phụ lục 6.9 Xác định độ thẩm thấu
- 14 Phụ lục 6.10. Xác định điện dẫn xuất
- 15 Phụ lục 6.11 Xác định khối lượng riêng của chất rắn
- 16 Phụ lục 7.10 Xác định các chất oxy hóa
- 17 Phụ lục 7.11 Xác định carbon hữu cơ toàn phần trong nước dùng cho ngành dược.
- 18 Phụ lục 9.1 Ống nghiệm dùng cho các phép thử so sánh
- 19 Phụ lục 9.4.6 Fluorid
- 20 Phụ lục 9.4.11 Định lượng kim loại nặng trong dược liệu và trong dầu béo
- 21 Phụ lục 10.14. Xác định dung môi tồn dư
- 22 Phụ lục 10.14.1 Quy định đối với tạp chất là dung môi tồn dư
- 23 Phụ lục 10.15 Xác định ethylen oxid và dioxan tồn dư
- 24 Phụ lục 10.16 Định lượng N,N-dimethylanilin
- 25 Phụ lục 10.17 Định lượng acid 2-ethylhexanoic
- 26 Phụ lục 10.18 Xác định acid acetic trong peptid tổng hợp
- 27 Phụ lục 12.2 Những qui định chung về kiểm tra chất lượng dược liệu
- 28 Phụ lục 12.3 Phép thử xác định chiết kiệt alcaloid
- 29 Phụ lục 12.8 Các phép thử của tinh dầu
- 30 Phụ lục 12.9 Dầu béo
- 31 Phụ lục 12.15 Cẩn khô của các chất chiết được trong dược liệu
- 32 Phụ lục 12.16 Mất khối lượng do làm khô của các chất chiết được trong dược liệu
- 33 Phụ lục 12.17 Dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật
- 34 Phụ lục 14 Hướng dẫn đánh giá sinh khả dụng và tương đương sinh học invivo các chế phẩm thuốc.
- 35 Phụ lục 15.6 Xác định hàm lượng Tween 20 trong vắc xin và sinh phẩm
- 36 Phụ lục 15.35 Xác định độ ẩm tồn dư trong vắc xin đông khô
- 37 Phụ lục 15.36 Phát hiện mycoplasma bằng phương pháp nuôi cấy
- 38 Phụ lục 15.37 Xác định hàm lượng Vi polysacarid trong vắc xin thương hàn Vi polysacarid
- 39 Phụ lục 15.38 Xác định hàm lượng polysacarid trong vắc xin và sinh phẩm
- 40 Phụ lục 15.39 Xác định độ tinh khiết kháng nguyên HBsAg
- 41 Phụ lục 15.40 Xác định hàm lượng lipid trong vắc xin và sinh phẩm.
- 42 Phụ lục 15.41 Xác định hàm lượng ceri clorid trong vắc xin và sinh phẩm
- 43 Phụ lục 17.6 Bơm tiêm bằng chất dẻo sử dụng một lần vô khuẩn
- 44 Phụ lục 17.7 Silicon dùng bôi trơn

**DANH MỤC CÁC CHUYÊN LUẬN CỦA ĐDVN III
KHÔNG ĐƯA VÀO ĐDVN IV**

TT Nguyên liệu hóa dược

- 1 Cloramin T
- 2 Emetin hydroclorid
- 3 Levamisol hydroclorid

TT Thành phẩm hóa dược

- 1 Dung dịch Acid boric 3 %
- 2 Dung dịch Iod 1 %
- 3 Chỉ khâu phẫu thuật không tiêu

TT Vắc xin và Sinh phẩm

- 1 Vắc xin đại

TT Dược liệu

- 1 A giao
- 2 Bạch đàn (Lá)
- 3 Bạch quả (Hạt)
- 4 Ba gạc (Vỏ rễ và rễ)
- 5 Bồ kết (Gai)
- 6 Bồ kết (Quả)
- 7 Đại (Vỏ thân)
- 8 Hậu phác (Hoa)
- 9 Lão quán thảo
- 10 Lộc giác
- 11 Lộc giác giao
- 12 Lộc giác sương
- 13 Mần tưới
- 14 Minh giao
- 15 Mộc thông (Thân)

TT Thuốc từ dược liệu

- 1 Bột cam sai
- 2 Bột cam cúc
- 3 Cồn xoa bóp
- 4 Hoàn chỉ thực tiêu bĩ
- 5 Hoàn hà xa đại tạo
- 6 Hoàn long đờm tả can
- 7 Huyết phủ trục ứ thang

TT Nguyên liệu hóa dược

- 4 Ouabain
- 5 Phytin
- 6 Reserpin

TT Thành phẩm hóa dược

- 4 Chỉ khâu phẫu thuật tự tiêu
- 5 Sirô Piperazin

TT Dược liệu

- 16 Ngưu hoàng
- 17 Phấn tỳ giải
- 18 Phù bình
- 19 Sơn đậu căn
- 20 Tam lăng
- 21 Thanh bì
- 22 Thần khúc
- 23 Thiên hoa phấn
- 24 Thiên nam tinh (Thân rễ)
- 25 Thường sơn (Rễ)
- 26 Trư linh
- 27 Trầm hương (Gỗ)
- 28 Vỏ quả lựu
- 29 Xạ hương

TT Thuốc từ dược liệu

- 8 Rượu bổ huyết trừ phong
- 9 Rượu rắn
- 10 Rượu tắc kè
- 11 Tô tử giáng khí thang
- 12 Thiên ma câu đằng thang
- 13 Viên nén ngân kiều giải độc

QUI ĐỊNH CHUNG

1. Tên chính của các chuyên luận là tên Việt Nam, sau tên Việt Nam là tên Latin và những tên Việt Nam thông dụng khác nếu có.

Đối với dược liệu: Có thể dùng tên qui ước để chỉ tên dược liệu, hoặc dùng tên gốc của cây, con làm vị thuốc đó để làm tên dược liệu. Tên quy ước của dược liệu là tên riêng của vị thuốc đã được dùng trong y học cổ truyền, ví dụ: Phù bình, Bạch giới tử... Trong trường hợp tên chuyên luận là tên cây, con dùng làm thuốc thì tiếp theo sau tên chuyên luận có thêm những từ chỉ bộ phận dùng của cây, con đó nhưng để trong dấu ngoặc đơn, ví dụ như (Lá), (Quả)...

Mỗi chuyên luận của Dược điển Việt nam IV (chuyên luận riêng hay phụ lục) là một tiêu chuẩn về chất lượng thuốc hoặc phương pháp kiểm nghiệm thuốc của Việt Nam.

2. Nguyên tử lượng các nguyên tố trong Dược điển Việt Nam IV là các giá trị đã được thừa nhận ghi trong Bảng nguyên tử lượng tương đối 1997 được xây dựng trên cơ sở chất đồng vị carbon $^{12}\text{C} = 12$ của Hiệp hội Quốc tế về Hóa học thuần túy và ứng dụng (IUPAC).

3. Các đơn vị đo lường dùng trong Dược điển Việt Nam IV đều tuân theo Nghị định của Chính phủ số 134/2007/NĐ-CP ngày 15 tháng 08 năm 2007 quy định về đơn vị đo lường chính thức.

4. Các đơn vị đo lường được viết tắt như sau:

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

5. Nếu không có chỉ dẫn khác, mọi nhiệt độ được ghi trong Dược điển Việt Nam IV đều được biểu thị bằng độ bách phân Celsius, ký hiệu là $^{\circ}\text{C}$.

6. Nhiệt độ tiêu chuẩn được qui định là 20°C , nhiệt độ bình thường của phòng thí nghiệm (nhiệt độ phòng) được qui định là 20°C đến 30°C . Nếu không có chỉ dẫn gì khác, tất cả thử nghiệm đối với thuốc phải thực hiện ở nhiệt độ phòng (20°C đến 30°C) và những nhận xét kết quả phải thực hiện ngay sau khi thao tác. Tuy nhiên khi đánh giá kết quả một thử nghiệm bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ thì phải thực hiện ở điều kiện nhiệt độ tiêu chuẩn (20°C).

Trong thử nghiệm "Mất khối lượng do làm khô", nếu chỉ qui định tiến hành ở một nhiệt độ nào đó, thì giới hạn cho phép về nhiệt độ được hiểu là: Nhiệt độ qui định $\pm 2^{\circ}\text{C}$ (ví dụ: 100°C nghĩa là $100^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

7. Nhiệt độ nước: Nước cách thủy là nước có nhiệt độ 98°C đến 100°C , trừ phi có chỉ dẫn khác; cụm từ "trong cách thủy" có nghĩa là dụng cụ ngâm trong nước đun sôi, "trên cách thủy" có nghĩa là dụng cụ chỉ tiếp xúc với hơi nước đun sôi.

Nước nóng: 70°C đến 80°C .

Nước ấm: 40°C đến 50°C .

Nước lạnh: 2°C đến 10°C .

Nước đá: 0°C

8. Nhiệt độ nơi bảo quản:

Lạnh sâu: Dưới -10°C .

Lạnh: 2°C đến 10°C .

Mát: 10°C đến 20°C .

Nhiệt độ phòng: 20°C đến 30°C (là nhiệt độ phổ biến ở nơi làm việc).

Nhiệt độ phòng có điều nhiệt: 20 °C đến 25 °C (là nhiệt độ được duy trì bằng máy điều hòa nhiệt độ).

Nóng: 35 °C đến 40 °C.

Rất nóng: Trên 40 °C.

9. Áp suất được biểu thị bằng số đơn vị kilôPascan (kPa).

1 kPa = 7,5006 Torr.

1 Torr là áp suất dưới cột thủy ngân 1 mm.

Nếu ghi "chân không" mà không có chỉ dẫn gì khác thì có nghĩa là áp suất không quá 2,0 kPa (15 mm thủy ngân).

10. Khái niệm "cân chính xác" là cân tới 0,1 mg, 0,01 mg hoặc 0,001 mg tùy theo độ nhạy của loại cân phân tích dùng để cân sao cho sai số của phép cân không quá 0,1%.

Khối lượng cân được có độ chính xác phù hợp với độ lặp lại xác định. Độ lặp lại đó tương ứng với +5 hoặc -5 đơn vị sau chữ số có nghĩa cuối cùng đã cho; ví dụ: Lượng cân 0,25 g nghĩa là lượng cân đó nằm trong khoảng 0,245 g đến 0,255 g.

Khái niệm "cân" nghĩa là phép cân được thực hiện với sai số dưới 1 %.

Khái niệm "cân khoảng" là cân để lấy một lượng không quá ± 10 % lượng chỉ định trong Dược điển.

Khái niệm "sấy đến khối lượng không đổi" và "nung đến khối lượng không đổi" nghĩa là hai lần cân liên tiếp không khác nhau quá 0,5 mg. Lần cân thứ hai tiến hành sau một thời gian sấy hoặc nung thêm (thường 1 giờ là thích hợp) tùy theo tính chất và lượng cân.

Khái niệm "đã cân trước" (đối với chén nung, bình, vại...) nghĩa là dụng cụ được xử lý đến khối lượng không đổi. Nếu trong chuyên luận có qui định phải cân một cân hay một tua (sấy khô, nung, đun bốc hơi) trong những dụng cụ thì có nghĩa là những dụng cụ này được sấy hoặc nung đến khối lượng không đổi.

Khái niệm "cân không đáng kể" hay "cân không thể cân được" là cân không nặng quá 0,5 mg.

11. Khi đo thể tích, nếu chữ số sau dấu thập phân là 0 hoặc tận cùng bằng 0 thì thể tích đó phải đong, đo chính xác (ví dụ 10,0 ml hoặc 0,50 ml). Khái niệm "đong, đo chính xác" để lấy một thể tích dung dịch hay chất lỏng là phải đong đo bằng pipet chính xác, bình định mức hay buret chuẩn. Còn "đong, đo" được hiểu là dùng ống đong hoặc những phương tiện khác thích hợp để đo thể tích. Những thể tích cỡ micrôlít được đo bằng micrôpipet hay micrôsyringe (bơm chất lỏng siêu vi).

Đếm giọt, dùng ống đếm giọt chuẩn, 20 giọt nước tinh khiết của ống này ở 20 °C có khối lượng từ 0,90 g đến 1,10 g.

12. "Nước" có nghĩa là nước tinh khiết. Nước tinh khiết được sử dụng trong tất cả các thử nghiệm thuốc nhưng không dùng với những chế phẩm tiêm.

13. Một dung dịch, nếu không ghi rõ dung môi sử dụng thì được hiểu là dung dịch trong nước tinh khiết hay nước cất.

14. Khái niệm "ngay" và "ngay lập tức" dùng trong thử nghiệm thuốc có nghĩa là thao tác này phải thực hiện trong vòng 30 giây sau thao tác trước đó.

15. Thử định tính là phép thử cần thiết để nhận biết một chất thuốc hay những thành phần chính của thuốc dựa trên tính chất vật lý hay hóa học đặc trưng.

Phổ hồng ngoại là phương pháp chuẩn xác để định tính, vì mỗi một chất thuốc chỉ cho một vùng "điểm chỉ" của phổ, không trùng lặp với phổ của những chất khác. Những đặc tính của phổ hồng ngoại có thể được dùng như là phép thử hàng đầu để định tính. Thường thì phép thử phổ hồng ngoại tự nó đã đủ tin cậy và không cần thêm phép thử nào khác. Tuy nhiên, khi một sản phẩm là một muối thì cần thiết thử thêm "ion đặc hiệu". Những phép thử định tính tiếp theo trong mỗi chuyên luận là để khẳng định lại về định tính của phổ hồng ngoại đã làm trước. Trong trường hợp cần thiết, cần tiến hành xác định thêm điểm chảy của thuốc; khi điểm chảy không có sự lặp lại đúng như nhiệt độ đã qui định thì có thể dùng một giá trị xấp xỉ, giới hạn sai số được qui định trong chuyên luận riêng.

16. Thử tinh khiết là tập hợp các phép thử nhằm phát hiện những tạp chất nhiễm vào thuốc. Để kiểm tra độ tinh khiết, phải thử xác định sự có mặt các tạp chất, số lượng và giới hạn của chúng cũng như những yêu cầu khác tùy theo mỗi chuyên luận. Những tạp chất được coi là đối tượng phải thử là những chất thường được đưa vào trong quá trình sản xuất hoặc xuất hiện trong quá trình bảo quản và những tạp chất bất thường như những kim loại nặng, arsen...Dược điển chỉ quy định kiểm tra những tạp chất thường gặp. Điều này có nghĩa là Dược điển không chấp nhận những tạp chất khác có trong thuốc mặc dù không được ghi trong Dược điển. Mỗi khi có sự thay thế chất này bằng chất khác hoặc cho thêm một chất mới trong thực hiện qui trình thì phải có thêm những phép thử tương ứng. Nồng độ của tạp chất được biểu thị bằng phần triệu của khối lượng, hoặc khi giới hạn vượt

quá 500 phần triệu thì được biểu thị bằng phần trăm (%). Những giá trị này chỉ là khoảng giá trị phù hợp với những yêu cầu đã được xác định dựa trên sự thích hợp với những thử nghiệm đã cho.

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

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

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

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

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

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

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

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

Thí dụ: 8,2758 làm tròn số là 8,276.

1,2634 làm tròn số là 1,263.

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

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

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

a) Màu:

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

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

b) Mùi:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

26. Ether có nghĩa là ether ethylic.

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

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

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

29. Các định nghĩa về độ tan như sau:

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

Độ tan được biểu thị như sau:

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

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

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

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

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

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

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

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

35. Dược liệu có nguồn gốc khác nhau, đặc điểm khác nhau, được mô tả một cách tương ứng và chi tiết, đầu tiên là một thứ, loài, sau đó mô tả một số đặc điểm của những thứ, loài khác, để giúp phân biệt chúng. Trong một số trường hợp, chúng được mô tả riêng rẽ ở những chuyên luận khác nhau.

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

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

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

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

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

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

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

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

39. Dược liệu dùng sản xuất thuốc thành phẩm (thuốc từ dược liệu) phải đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam. Nếu có yêu cầu dùng dược liệu đã bào chế thì qui trình bào chế phải được tiến hành theo phương pháp qui định trong chuyên luận Dược điển. Trừ khi có những chỉ định khác.

40. Lượng qui định cho mỗi thành phần trong công thức của một chế phẩm thuốc từ dược liệu được tính theo lượng dược liệu sạch, đã tán thành bột hoặc đã được xử lý.

41. Dược liệu sử dụng theo đường uống thường dùng dưới dạng thuốc sắc, trừ khi có những chỉ định khác.

42. Liều lượng qui định dùng trong dược điển là liều dùng thông thường đối với người trưởng thành. Việc sửa đổi, điều chỉnh liều lượng tùy thuộc vào tình trạng bệnh tật của từng người bệnh cụ thể. Liều tối đa của một thuốc là liều cao nhất mà người trưởng thành có thể chịu được và không được dùng quá liều đó; trừ khi có những chỉ định khác.

43. Nước dùng trong bào chế thuốc từ dược liệu là nước sạch, nước uống đạt theo tiêu chuẩn vệ sinh y tế.

44. Rượu dùng trong bào chế thuốc từ dược liệu là ethanol 40 % đến 45 %.

45. Những yêu cầu cơ bản về bảo quản thuốc được ghi ở mục "Bảo quản". Đồ đựng là phương tiện để bảo quản thuốc, yêu cầu của đồ đựng cũng bao gồm cả những phần hợp thành như là nút hay nắp. Các đồ đựng phải kín, không được làm ảnh hưởng đến chất lượng thuốc đựng bên trong, không cho môi trường bên ngoài tác động ảnh hưởng đến chất lượng và phải đạt theo qui định của Dược điển Việt Nam.

Về nhiệt độ nơi bảo quản phải thực hiện đúng yêu cầu qui định.

"Tránh ánh sáng" có nghĩa là chất đựng được để trong chai lọ thủy tinh màu hổ phách, hoặc chai lọ thủy tinh màu, chai lọ thủy tinh bọc bằng giấy đen hoặc bất kỳ đồ đựng nào không bị ảnh hưởng bởi ánh sáng.

"Đậy kín" có nghĩa là đồ đựng có thể tránh cho các chất đựng bên trong không bị bụi bẩn và các chất lạ bên ngoài nhiễm vào.

"Hàn kín" có nghĩa là đồ đựng phải kín hơi và có thể bảo vệ chất đựng trong đó chống được hơi ẩm và các vi khuẩn.

46. Nhãn thuốc phải theo đúng quy định hiện hành.

KÝ HIỆU CÁC CHỮ VIẾT TẮT

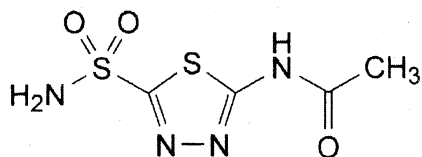
ĐDVN IV:	Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ tư.
TT:	Thuốc thử.
ĐC:	Chất đối chiếu.
CD:	Chuẩn độ (Dung dịch).
BCG:	Bacillus Calmette - Guérin.
Lf/ mg PN:	Đơn vị lên bông trong 1 mg nitrogen protein.
Lf/ mg N:	Đơn vị lên bông trong 1 mg nitrogen toàn phần.
Kf:	Thời gian xuất hiện hiện tượng lên bông (tính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

CPE:	Tác động gây bệnh tế bào (Cytopathic effect).
MEM:	Môi trường MEM (Minimum Essential Medium).
FCS:	Huyết thanh bào thai bê (Foetal Calf Sera).
CCID ₅₀ :	Lượng virus gây nhiễm 50% tế bào (Cell culture infective dose).
NMSL:	Nước muối sinh lý.
EU:	Đơn vị nội độc tố (Endotoxin Unit).
Nước BET:	Nước để thử nội độc tố.
Me:	- CH ₃ (methyl)
Et:	- CH ₂ CH ₃ (ethyl)
Pr ⁱ :	- CH(CH ₃) ₂ (<i>iso</i> -propyl)
Pr ⁿ :	- CH ₂ CH ₂ CH ₃ (<i>n</i> -propyl)
Bu ⁱ :	- CH ₂ CH(CH ₃) ₂ (<i>iso</i> -butyl)
Bu ^s :	- CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃ (<i>sec</i> -butyl)
Bu ⁿ :	- CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃ (<i>n</i> -butyl)
Bu ^t :	- C(CH ₃) ₃ (<i>tert</i> -butyl)
Ph:	- C ₆ H ₅ (phenyl)
Ac:	- COCH ₃ (acetyl)

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

ACETAZOLAMID

Acetazolamidum



$C_4H_6N_4O_3S_2$

P.t.l: 222,2

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

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.

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

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

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

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

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

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

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT). Dung dịch này không được đục hơn hỗn dịch chuẩn đối chiếu số II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V₅ hoặc VN₅ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Không được quá 1 %.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Hệ dung môi: Hỗn hợp dung môi mới pha: Amoniac - ethyl acetat - isopropanol (20 : 30 : 50).

Dùng bình sắc ký không có lớp giấy lót bên trong và để cho bình bão hòa dung môi 1 giờ trước khi triển khai sắc ký.

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong hỗn hợp đồng thể tích của ethanol 96 % (TT) và ethyl acetat (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích của ethanol 96 % (TT) và ethyl acetat (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử ngoài vết chính không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1 %).

Sulfat

Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.4.14).

Thêm 20 ml nước vào 0,4 g chế phẩm và hòa tan bằng cách đun nóng tới sôi. Làm nguội trong khi vẫn lắc liên tục và lọc.

Lấy 15 ml dịch lọc tiến hành thử.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 2 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 25 ml dimethylformamid (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M trong ethanol (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M trong ethanol (CD) tương đương với 22,22 mg $C_4H_6N_4O_3S_2$.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống glôcôm.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN ACETAZOLAMID

Tabellae Acetazolamidi

Là viên nén chứa acetazolamid.

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

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

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g acetazolamid, thêm 2 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT). Lắc kỹ, lọc, trung tính dịch lọc bằng acid acetic băng (TT), lọc lấy tủa, sấy tủa thu được ở 105 °C đến khô.

Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của sản phẩm thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của acetazolamid.

B. Nghiền một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g acetazolamid với hỗn hợp gồm 5 ml nước và 1 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), cho hỗn hợp thu được vào ống nghiệm, thêm 0,2 g kẽm bột (TT) và 0,5 ml acid hydrochloric (TT), lập tức đặt mảnh giấy có tẩm dung dịch chỉ acetat (TT) lên trên miệng ống nghiệm, trên giấy sẽ xuất hiện màu đen nâu.

C. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 25 mg acetazolamid, thêm 5 ml nước, 0,15 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), lắc, thêm 0,1 ml dung dịch đồng sulfat 10 % (TT), sẽ xuất hiện tủa hoặc màu lam ánh lục.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Propan-2-ol - ethyl acetat - amoniac (50 : 30 : 20).

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg acetazolamid, thêm 10 ml hỗn hợp dung môi đồng thể tích ethanol 96 % (TT) và ethyl acetat (TT), lắc kỹ trong 20 phút, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hút chính xác 1 ml dung dịch thử, pha loãng với hỗn hợp dung môi trên vừa đủ 100 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Trên sắc ký đồ, bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được có màu đậm hơn màu của vết chính của dung dịch đối chiếu (1 %).

Định lượng

Phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,4 g acetazolamid, thêm 90 ml dimethylformamid (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CD). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế.

1 ml dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CD) tương đương với 22,22 mg $C_4H_6N_4O_3S_2$.

Bảo quản

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

Loại thuốc

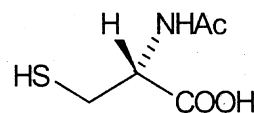
Thuốc chống glôcôm.

Hàm lượng thường dùng

125 mg, 250 mg.

ACETYLCYSTEIN

Acetylcysteinum



$C_3H_7NO_3S$

P.t.l:163,2

Acetylcystein là acid (2R)-2-(acetylamino)-3-sulfanylpropanoic, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_3H_7NO_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể không màu.

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

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

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

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

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

D. Kiểm tra sắc ký đồ ở mục phép thử "Tạp chất liên quan". Thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ *dung dịch thử (2)* phải tương tự với pic chính trong sắc ký đồ thu được từ *dung dịch đối chiếu (2)*.

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

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

pH

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

Góc quay cực riêng

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

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

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các *dung dịch* ngay trước khi dùng, trừ *dung dịch thử (3)*.

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

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

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

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

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

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

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/mm.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Khi tiến hành sắc ký theo các điều kiện trên, các chất sẽ có thời gian lưu như sau: *L-cystin* khoảng 2,2 phút; *L-cystein* khoảng 2,4 phút; acid 2-methyl-2-thiazolin-4-carboxylic [được tạo thành trong *dung dịch thử (3)*] khoảng 3,3 phút; acetylcystein khoảng 6,4 phút; tạp chất C khoảng 12 phút; tạp chất D khoảng 14 phút. Tiêm *dung dịch đối chiếu (1)*. Phép thử chỉ có giá trị khi:

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

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

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

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

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

Trong đó:

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

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

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

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

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

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

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

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

được quá 0,5 %. Bỏ qua tất cả các pic ứng với pic của dung môi, pic xuất hiện với thời gian lưu khoảng 3,3 phút (tương ứng với pic của acid 2-methyl-2-thiazolin-4-carboxylic) và các pic có diện tích pic nhỏ hơn 0,1 lần so với pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2).

Kẽm

Không được quá 10 phần triệu.

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

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

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

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

Kim loại nặng

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

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

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

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,140 g chế phẩm trong 60 ml *nước* và thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Sau khi làm mát trong nước đá, thêm 10 ml *dung dịch kali iodid (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch iod 0,1 N (CD)*, dùng 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CD)* tương đương với 16,32 mg $C_5H_9NO_3S$.

Bảo quản

Bảo quản tránh ánh sáng.

Loại thuốc

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

Chế phẩm

Thuốc tiêm, thuốc cốm.

NANG ACETYLCYSTEIN

Capsulae Acetylcysteinini

Là nang cứng chứa acetylcystein.

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

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

Tính chất

Nang cứng, bột thuốc trong nang màu trắng hay trắng ngà, mùi đặc biệt, có vị ngọt.

Định tính

A. Trong phần định lượng, trên sắc ký đồ dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic acetylcystein trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Hòa tan một lượng chế phẩm chứa khoảng 1,0 g acetylcystein trong 20 ml *nước*. Lắc kỹ, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT)* và 0,1 ml *amoniac đậm đặc (TT)* sẽ xuất hiện màu đỏ tím đậm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

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

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

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

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

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

Thể tích tiêm: 20 μl.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Cách tiến hành:

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

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

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

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc điều hòa sự tiết dịch của phế quản.

Hàm lượng thường dùng

Nang 200 mg.

THUỐC BỘT ACETYL-CYSTEIN

Pulveres Acetylcysteiini

Là thuốc bột chứa acetylcystein.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

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

Tính chất

Bột màu trắng, có vị ngọt.

Định tính

A. Trong phần định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic acetylcystein trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Hòa tan một lượng chế phẩm chứa khoảng 1,0 g acetylcystein trong 20 ml nước. Lắc kỹ, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT) và 0,1 ml amoniac đậm đặc (TT) sẽ xuất hiện màu đỏ tím đậm.

Mất khối lượng do làm khô

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

Độ mịn

Thuốc bột phải đạt yêu cầu Bột rất mịn (Phụ lục 3.5).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

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

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc đã nghiền mịn thu được ở phép thử Độ đồng đều khối lượng tương ứng khoảng 0,1 g acetylcystein vào bình định mức 100 ml, hòa tan và pha loãng với dung dịch natri metabisulfite 0,05 % đến định mức, lắc đều, lọc. Hút 10 ml dịch lọc vào bình định mức 100 ml, pha

loãng với dung dịch natri metabisulfite 0,05 % đến định mức, lắc đều.

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

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 214 nm.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Cách tiến hành :

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

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

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

Bảo quản

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

Loại thuốc

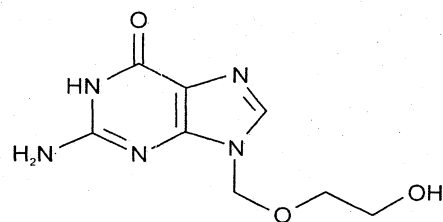
Thuốc điều hòa sự tiết dịch của phế quản.

Hàm lượng thường dùng

200 mg.

ACICLOVIR

Aciclovirum



$C_8H_{11}N_5O_3$

P.t.l: 225,2

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

Tính chất

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

Định tính

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Không được quá 1 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac đậm đặc (80 : 20 : 2).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *dimethyl sulfoxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng *dimethyl sulfoxyd (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm và 366 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Guanin

Không được quá 0,7 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acid acetic băng - nước (1 : 999).

Dung dịch 1: Hòa tan một lượng cân chính xác aciclovir chuẩn và guanin chuẩn trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* và pha loãng với *nước* để thu được dung dịch có nồng độ chính xác của mỗi chất khoảng 0,1 mg/ml.

Dung dịch 2: Hòa tan một lượng cân chính xác guanin chuẩn trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* và pha loãng với *nước* để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,7 μ g/ml.

Dung dịch chuẩn guanin: Cân chính xác khoảng 8,75 mg guanin chuẩn vào bình định mức 500 ml. Hòa tan trong 50 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N*, pha loãng với *nước* đến vạch và lắc đều. Lấy 2,0 ml dung dịch này vào bình định mức 50 ml, pha loãng với *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N* đến vạch và lắc đều để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,7 μ g/ml.

Dung dịch thử: Hòa một lượng cân chính xác khoảng 100 mg chế phẩm trong 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* trong bình định mức 200 ml, pha loãng với *nước* đến vạch và lắc đều. Lấy 10,0 ml dung dịch

này vào bình định mức 50 ml và pha loãng với *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N* đến vạch và lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (30 cm $\times$ 4,2 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 μ m đến 10 μ m).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 3 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch 1: Độ phân giải giữa pic của aciclovir và guanin không được nhỏ hơn 2,0. Hệ số đối xứng của pic guanin không được lớn hơn 2.

Tiêm dung dịch 2: Độ lệch chuẩn tương đối giữa các lần tiêm của chiều cao hoặc diện tích pic guanin không được lớn hơn 2,0 %.

Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn guanin và dung dịch thử.

Tính hàm lượng % của guanin trong chế phẩm theo chiều cao hoặc diện tích pic của guanin trong dung dịch chuẩn guanin và dung dịch thử.

Nước

Không được quá 6,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

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

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)* tương đương với 22,52 mg C₈H₁₁N₅O₃.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc

Thuốc kháng virus.

Chế phẩm

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

KEM ACICLOVIR***Unguentum Acicloviri***

Là thuốc kem dùng ngoài da có chứa aciclovir.

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

Hàm lượng aciclovir, C₈H₁₁N₅O₃, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Thuốc mỡ có màu trắng hoặc trắng hơi ngà vàng.

Định tính

A. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong phần định lượng, trong khoảng từ 230 đến 350 nm, có cực đại hấp thụ ở 255 nm và có một vai ở khoảng 274 nm.

B. Trong phần thử guanin, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch (2) phải phù hợp về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch (3).

Guanin

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

Bản mỏng: Celulose F₂₅₄

Dung môi khai triển (1): Ethyl acetat.

Dung môi khai triển (2): Propan-1-ol - amoniac 13,5 M - dung dịch amoni sulfat 5 % (10 : 30 : 60).

Dung dịch (1): Cân một lượng kem đã trộn đều có chứa 30 mg aciclovir vào một ống ly tâm có nút 10 ml, thêm 3 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và lắc để phân tán kem. Thêm 5 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích *cloroform (TT)* và 2 thể tích *propan-1-ol (TT)*, lắc mạnh, ly tâm và pha loãng lớp dung dịch ở trên thành 5 ml với *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, trộn đều, ly tâm và sử dụng lớp dung dịch phía trên.

Dung dịch (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*.

Dung dịch (3): Hòa tan 6,0 mg aciclovir chuẩn trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*.

Dung dịch (4): Hòa tan 6,0 mg guanin trong 100 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký với dung môi khai triển (1) đến khi dung môi đi hết chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, làm khô trong luồng không khí khô và triển khai sắc ký một lần nữa với dung môi khai triển (2) đến khi dung môi đi được 8 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Trên sắc ký đồ của dung dịch (1), bất kỳ vết phụ nào tương ứng với vết guanin phải không được có màu đậm màu hơn màu của vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch (4) (1,0 %). Không kể đến bất kỳ vết nào xuất hiện ngay dưới vạch dung môi.

Định lượng

Lắc một lượng kem đã được trộn đều có chứa 7,5 mg aciclovir với 50 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*. Lắc mạnh với 50 ml *ethyl acetat (TT)*, để lắng cho tách lớp và lấy lớp dung dịch nước bên dưới. Rửa lớp dung môi hữu cơ với 20 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*, gộp dịch rửa và lớp nước bên dưới, pha loãng thành 100 ml với *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*. Lắc đều và lọc (giấy lọc Whatman GF/F), bỏ 10 ml dịch lọc đầu, lấy chính xác

10 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml, thêm nước vừa đủ đến vạch. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 255 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng hỗn hợp *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)* và nước (1 : 4) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng aciclovir, $C_8H_{11}N_5O_3$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 562 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 255 nm.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Thuốc chống virus.

Hàm lượng thường dùng

Tuýp 2 g, 10 g kem dùng ngoài 5 %.

VIÊN NÉN ACICLOVIR**Tabellae Acicloviri**

Là viên nén chứa aciclovir.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

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

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong phần Định lượng, trong khoảng từ 230 đến 350 nm, có cực đại hấp thụ ở 255 nm và có một vai ở khoảng 274 nm.

B. Trong phần thử guanin, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch (2) phải phù hợp về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch (3).

Guanin

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

Bản mỏng: Celulose F₂₅₄

Dung môi khai triển: Propan-1-ol - amoniac 13,5 M - dung dịch amoni sulfat 5 % (10 : 30 : 60).

Dung dịch (1): Cân một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,25 g aciclovir vào bình định mức 50 ml, thêm 25 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, lắc trong 10 phút, thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, để yên để lắng những phần nguyên liệu không tan trước khi tiến hành chấm sắc ký.

Dung dịch (2): Pha loãng 1 ml dung dịch (1) thành 10 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*.

Dung dịch (3): Hòa tan 5,0 mg aciclovir chuẩn trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*.

Dung dịch (4): Hòa tan 5,0 mg guanin trong 100 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Lấy bản sắc ký ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Trên sắc ký đồ của dung dịch (1), bất kỳ vết phụ nào tương ứng với vết guanin phải không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch (4) (1,0 %). Không kể đến bất kỳ vết nào xuất hiện ngay dưới vạch dung môi.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng dịch lọc bằng dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) (nếu cần).

Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 255 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng aciclovir, $C_8H_{11}N_5O_3$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 560 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 255 nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng aciclovir, $C_8H_{11}N_5O_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac 13,5 M - methanol - dicloromethan (2 : 20 : 80)

Dung dịch (1): Lắc một lượng bột viên tương ứng 0,25 g aciclovir với 10 ml dimethyl sulfoxid (TT) trong 15 phút và lọc.

Dung dịch (2): Pha loãng 0,7 ml dung dịch (1) thành 100 ml bằng dimethyl sulfoxid (TT).

Dung dịch (1) và (2) phải pha và sử dụng ngay.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Lấy bản sắc ký ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Trên sắc ký đồ của dung dịch (1), bất kỳ vết phụ nào có giá trị R_f lớn hơn giá trị R_f của vết chính, phải không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch (2) (0,7 %).

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột

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

Bảo quản

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

Loại thuốc

Thuốc chống virus.

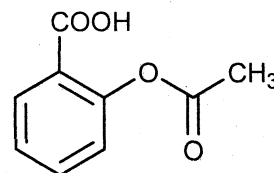
Hàm lượng thường dùng

200 mg, 400 mg, 800 mg.

ACID ACETYLSALICYLIC

Acidum acetylsalicylicum

Aspirin



$C_9H_8O_4$

P.t.l: 180,2

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

Tính chất

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

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của acid acetylsalicylic chuẩn.

B. Đun sôi 0,2 g chế phẩm với 4 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* trong 3 phút, để nguội và thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Tủa kết tinh được tạo thành. Tủa sau khi được lọc, rửa với *nước* và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C, có điểm chảy từ 156 °C đến 161 °C (Phụ lục 6.7).

C. Trong một ống nghiệm, trộn 0,1 g chế phẩm với 0,5 g *calci hydroxyd (TT)*.

Đun hỗn hợp và cho khối sinh ra tiếp xúc với miếng giấy lọc đã được tẩm 0,05 ml *dung dịch nitrobenzaldehyd (TT)* sẽ xuất hiện màu vàng ánh lục hoặc xanh lam ánh lục. Làm ẩm miếng giấy lọc với *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)*, màu sẽ chuyển thành xanh lam.

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), các dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Pha động: *Acid phosphoric - acetonitril - nước* (2 : 400 : 600).

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

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50,0 mg *acid salicylic (TT)* trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Hút chính xác 1 ml dung dịch này và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 10,0 mg *acid salicylic (TT)* trong pha động và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch này và 0,2 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 1 ml/min

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 7 lần thời gian lưu của acid acetylsalicylic. Phép thử này chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch phân giải ít nhất là 6,0.

Trong sắc ký đồ của dung dịch thử: diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính, không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch

đối chiếu (0,1 %); tổng diện tích của tất cả các pic phụ không lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,25 %). Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

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

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

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,00 g; áp suất giảm; phosphor pentoxyd).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

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

Song song làm mẫu trắng.

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

Bảo quản

Chế phẩm được bảo quản trong chai lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Hạ nhiệt, giảm đau, kháng viêm.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN ACID ACETYLSALICYLIC

Tabellae Acidi acetylsalicylici

Viên nén aspirin

Là viên nén chứa acid acetylsalicylic.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

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

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch đệm pH 4,5*.

Pha dung dịch đệm pH 4,5: Hòa tan 29,9 g *natri acetat (TT)* trong nước, thêm 16,6 ml *acid acetic băng (TT)* và thêm nước vừa đủ 10 lít.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một lượng *dung dịch hòa tan*, lọc, bỏ 10 ml *dịch lọc đầu*. Đo độ hấp thụ ánh sáng ngay lập tức ở bước sóng 265 nm (Phụ lục 4.1) (nếu cần pha loãng *dịch lọc* với môi trường hòa tan để có nồng độ thích hợp), so với mẫu trắng là môi trường hòa tan. Song song đo độ hấp thụ ánh sáng của *dung dịch acid acetylsalicylic chuẩn* có nồng độ tương đương được pha trong môi trường hòa tan.

Từ hàm lượng acid acetylsalicylic chuẩn, tính hàm lượng acid acetylsalicylic, $C_9H_8O_4$, có trong *dung dịch mẫu thử đã hòa tan*.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % hàm lượng acid acetylsalicylic, $C_9H_8O_4$, so với hàm lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Giới hạn acid salicylic tự do

Không được quá 3,0 %.

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

Định lượng

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

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)* tương ứng với 45,04 mg $C_9H_8O_4$.

Bảo quản

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

Loại thuốc

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

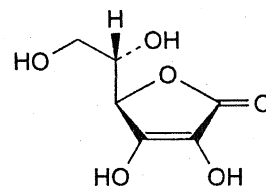
Hàm lượng thường dùng

100 mg, 300 mg, 500 mg.

ACID ASCORBIC

Acidum ascorbicum

Vitamin C, acid L-ascorbic



$C_6H_8O_6$

P.t.l: 176,1

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

Tính chất

Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, bị biến màu khi tiếp xúc với không khí, ánh sáng và ẩm. Không mùi hoặc gần như không mùi. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong cloroform và ether. Chảy ở khoảng 190 °C cùng với phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C

Nhóm II: A, C, D

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

A. Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong nước và pha loãng ngay thành 100,0 ml với cùng dung môi. Cho 1,0 ml *dung dịch mới pha* vào 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước. Đo độ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của *dung dịch thu được* ngay sau khi pha loãng. *Dung dịch chỉ có duy nhất một cực đại hấp thụ ở 243 nm*. Giá trị A (1 %, 1 cm) ở 243 nm nằm trong khoảng từ 545 đến 585.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của acid ascorbic chuẩn. Dập viên chứa 1 mg chế phẩm.

C. pH của dung dịch S nằm trong khoảng từ 2,1 đến 2,6 (Phụ lục 6.2).

D. Thêm 0,2 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và 0,2 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)* vào 1 ml dung dịch S, sẽ xuất hiện tủa màu xám.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VN₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ +20,5° đến +21,5° (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi để tiến hành thử.

Acid oxalic

Không được quá 0,3 %.

Chuẩn bị đồng thời dung dịch thử và dung dịch đối chiếu như sau:

Dung dịch thử: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong 5 ml nước. Trung tính hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* với giấy quỳ đỏ (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 70 mg acid oxalic (TT) trong nước và pha loãng thành 500 ml với cùng dung môi, dùng 5,0 ml dung dịch này để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Thêm đồng thời vào mỗi dung dịch trên 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và 0,5 ml *dung dịch calci clorid 0,5 M*. Để yên trong 1 giờ. Dung dịch thử không được đục hơn dung dịch đối chiếu.

Đồng

Không được quá 5 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid nitric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn đồng có chứa 0,2; 0,4 và 0,6 phần triệu bằng cách pha loãng *dung dịch đồng mẫu 10 phần triệu (TT)* bằng *dung dịch acid nitric 0,1 M (TT)*.

Đo độ hấp thụ ở 324,8 nm, dùng đèn cathod rỗng đồng làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen. Dùng *dung dịch acid nitric 0,1 M (TT)* để hiệu chỉnh máy về zero.

Sắt

Không được quá 2 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid nitric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn sắt có chứa 0,2; 0,4 và 0,6 phần triệu bằng cách pha loãng

dung dịch sắt mẫu 20 phần triệu bằng *dung dịch acid nitric 0,1 M (TT)*.

Đo độ hấp thụ ở 248,3 nm, dùng đèn cathod rỗng sắt làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen. Dùng *dung dịch acid nitric 0,1 M (TT)* để hiệu chỉnh máy về zero.

Kim loại nặng

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

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

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

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

1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 8,806 mg C₆H₈O₆.

Bảo quản

Trong chai lọ kín, tránh ẩm, tránh tiếp xúc với kim loại và ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin C (vitamin tan trong nước). Chất bảo quản (chống oxy hóa).

Chế phẩm

Viên nén, viên nang, thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM ACID ASCORBIC

Injectio Acidi ascorbici

Thuốc tiêm Vitamin C

Là dung dịch vô khuẩn của acid ascorbic trong nước để pha thuốc tiêm, có thể thêm các chất bảo quản.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acid ascorbic, C₆H₈O₆, từ 95,0 % đến 105,0 % so với hàm lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu hay màu vàng nhạt.

Định tính

A. Lấy một lượng chế phẩm chứa khoảng 50 mg acid ascorbic, thêm 0,2 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 0,2 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*. Xuất hiện tủa màu xám đen.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethanol 96 % - nước (120 : 20)

Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm, nếu cần, với nước để thu được dung dịch có nồng độ acid ascorbic 0,5 %.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch acid ascorbic chuẩn 0,5 %.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

pH

Từ 5,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Màu sắc

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

Độ hấp thụ đo được không quá 0,06.

Acid oxalic

Không được quá 0,3 %.

Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm có chứa 250 mg acid ascorbic, nếu cần, pha loãng với nước vừa đủ 5 ml, trung hòa bằng dung dịch natri hydroxyd 2 M với giấy quỳ đỏ (TT), thêm 1 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT) và 0,5 ml dung dịch calci clorid 0,5 M (TT). Để yên trong 1 giờ.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 70 mg acid oxalic (TT) trong 500 ml nước. Lấy 5 ml dung dịch thu được, thêm 1 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT) và 0,5 ml dung dịch calci clorid 0,5 M (TT). Để yên trong 1 giờ.

Pha chế dung dịch thử và dung dịch đối chiếu trong cùng thời gian và cùng điều kiện.

Dung dịch thử không được đục hơn dung dịch đối chiếu.

Định lượng

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

1 ml dung dịch kali iodat 0,1 N (CĐ) tương đương với 8,806 mg C₆H₈O₆.

Bảo quản

Nơi thoáng, mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

100 mg/ml, 250 mg/ml, 500 mg/ml.

VIÊN NÉN ACID ASCORBIC

Tabellae Acidi ascorbici

Viên nén Vitamin C

Là viên nén chứa acid ascorbic.

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

Hàm lượng acid ascorbic, C₆H₈O₆, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng hay trắng ngà.

Định tính

A. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,10 g acid ascorbic, thêm 10 ml nước, lắc kỹ, lọc. Dịch lọc có phản ứng acid với giấy quỳ (TT). Lấy 5 ml dịch lọc thêm 0,5 ml dung dịch bạc nitrat 2 % (TT), xuất hiện tủa xám đen.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethanol 96 % - nước (120 : 20).

Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,05 g acid ascorbic, thêm 10 ml nước, lắc kỹ và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch acid ascorbic chuẩn 0,5 %.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng để khô ngoài không khí ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có vết tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

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

1 ml dung dịch iod 0,1 N (CĐ) tương đương với 8,806 mg C₆H₈O₆.

Bảo quản

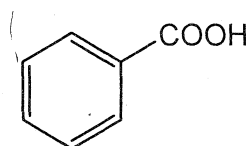
Tránh ẩm và ánh sáng, tránh để tiếp xúc với kim loại.

Loại thuốc

Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

100 mg, 500 mg, 1000 mg.

ACID BENZOIC
Acidum benzoicum

 $C_7H_6O_2$

P.t.l: 122,1

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

Tính chất

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

Định tính

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong ethanol 96 % (TT) và pha loãng với cùng dung môi thành 100,0 ml.

A. Điểm chảy: 121 °C đến 124 °C (Phụ lục 6.7).

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

Các hợp chất dễ bị carbon hóa

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml acid sulfuric (TT), lắc đều. Sau 5 phút, dung dịch này không được thâm màu hơn dung dịch màu chuẩn V5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Các hợp chất dễ bị oxy hóa

Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 10 ml nước sôi. Để nguội, lắc đều và lọc. Thêm 1 ml dung dịch acid sulfuric loãng (TT) và 0,2 ml dung dịch kali permanganat 0,1 N (CD) vào dịch lọc. Sau 5 phút dung dịch vẫn phải còn màu hồng.

Các hợp chất chứa clor

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

Dung dịch (1): Hòa tan 6,7 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 40 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT) và 50 ml ethanol 96 % (TT), pha loãng với nước thành 100 ml. Lấy 10,0 ml dung dịch này thêm 7,5 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT) và 0,125 g hợp kim

nikel - nhôm (TT) và đun nóng trên cách thủy trong 10 phút. Để nguội đến nhiệt độ phòng, lọc, hứng dịch lọc vào bình định mức 25 ml, rửa ba lần, mỗi lần với 2 ml ethanol 96 % (TT), pha loãng với nước thành 25 ml.

Dung dịch (2): chuẩn bị giống như dung dịch (1) nhưng không có chế phẩm.

Trong 4 bình định mức 25 ml, cho riêng rẽ 10 ml dung dịch (1), 10 ml dung dịch (2), 10 ml dung dịch clorid mẫu 8 phần triệu (TT) [dung dịch (3)] và 10 ml nước [dung dịch (4)]. Thêm vào mỗi bình 5 ml dung dịch phèn sắt amoni (TT). Thêm từng giọt, vừa thêm vừa lắc, 2 ml acid nitric (TT) và 5 ml dung dịch thủy ngân (II) thiocyanat (TT). Lắc kỹ, thêm nước đến định mức và để trong cách thủy ở 20 °C trong 15 phút. Đo độ hấp thụ ở 460 nm (Phụ lục 4.1) của dung dịch (1), dùng dung dịch (2) làm mẫu trắng và độ hấp thụ của dung dịch (3), dùng dung dịch (4) làm mẫu trắng.

Độ hấp thụ của dung dịch (1) không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch (3) (300 phần triệu).

Kim loại nặng

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

Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 2. Dung dịch đối chiếu là dung dịch gồm 5 ml ethanol 96 % (TT) trộn đều với 5 ml dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu (TT) và 2 ml dung dịch S.

Tro sulfat

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

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,200 g chế phẩm, hòa tan trong 20 ml ethanol 96 % (TT), thêm 0,1 ml dung dịch đỏ phenol (TT), chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD) cho đến khi màu chuyển từ vàng sang đỏ tím.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD) tương đương với 12,21 mg $C_7H_6O_2$.

Bảo quản

Chế phẩm được bảo quản trong chai lọ nút kín.

Loại thuốc

Kháng nấm, chất bảo quản chống vi sinh vật.

THUỐC MỠ BENZOSALI
Unguentum Benzosalicylici

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

Công thức

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

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

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

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

Tính chất

Thuốc mỡ màu trắng đục.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

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

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

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

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

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

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

Định lượng

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

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

Acid salicylic: Làm nguội dung dịch đã chuẩn độ xong ở phần định lượng acid benzoic. Lọc qua giấy lọc đã thấm nước vào bình định mức 250 ml, thêm khoảng 20 ml nước vào bình nón, tráng kỹ và lọc tiếp vào bình định mức trên, làm như vậy 2 lần nữa, tập trung dịch lọc vào bình định mức, thêm nước vừa đủ

đến vạch, lắc đều. Lấy chính xác 5 ml dung dịch thu được vào bình định mức 50 ml, thêm dung dịch sắt (III) clorid 0,1 % trong dung dịch acid nitric 0,1 % vừa đủ đến vạch. Lọc (nếu cần) để loại bỏ khói mù trong bình, rồi đo độ hấp thụ của dung dịch này ở bước sóng cực đại 530 nm (Phụ lục 4.1), dùng dung dịch sắt (III) clorid 0,1 % trong dung dịch acid nitric 0,1 % làm mẫu trắng. Song song tiến hành đo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn được pha như sau: Lấy chính xác 5 ml dung dịch acid salicylic 0,024 % cho vào bình định mức 50 ml, thêm dung dịch sắt (III) clorid 0,1 % trong dung dịch acid nitric 0,1 % vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc (nếu cần) để loại bỏ khói mù trong bình. Tính hàm lượng của acid salicylic, $C_7H_6O_3$, dựa theo độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_7H_6O_3$ trong dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, ở nơi mát.

ACID BORIC

Acidum boricum

H_3BO_3

P.t.l: 61,8

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

Tính chất

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

Định tính

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

B. Dung dịch S có phản ứng acid.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

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

pH

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

Độ tan trong ethanol 96 %

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

Tạp chất hữu cơ

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

Sulfat

Không được quá 0,045 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 10 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 15 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dung hỗn hợp gồm 2,5 ml dung dịch chì mẫu 2 phần triệu (TT) và 7,5 ml nước để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Định lượng

Hòa tan 1,000 g chế phẩm bằng cách làm nóng trong 100 ml nước có chứa 15 g manitol (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ) cho tới khi xuất hiện màu hồng, dùng 0,5 ml dung dịch phenolphthalein (TT) làm chỉ thị.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ) tương đương với 61,80 mg H₃BO₃.

THUỐC MỠ ACID BORIC 10 %

Unguentum Acidi borici 10 %

Là thuốc mỡ dùng ngoài da có chứa acid boric.

Acid boric phải được tán thành bột mịn qua rây số 125 trước khi bào chế.

Công thức

Acid boric (tán rất mịn) 10 g

Tá dược nhũ hóa vừa đủ 100 g

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

Hàm lượng acid boric, H₃BO₃, từ 9,0 % đến 11,0 %.

Tính chất

Thuốc mỡ màu trắng hoặc vàng nhạt.

Định tính

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

Định lượng

Cân chính xác khoảng 1,0 g chế phẩm cho vào cốc có mỏ, thêm 20 ml nước và 20 ml glycerin (TT) đã được trung tính trước với dung dịch phenolphthalein (TT) làm chỉ thị. Đun cách thủy cho tan, lắc đều. Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ) đến khi xuất hiện màu hồng bền vững [dung dịch phenolphthalein (TT) làm chỉ thị].

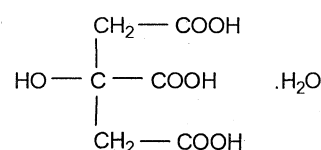
1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ) tương đương với 6,18 mg H₃BO₃.

Bảo quản

Đựng trong lọ thủy tinh hay bình sứ, nút kín.

ACID CITRIC NGÂM MỘT PHẦN TỬ NƯỚC

Acidum citricum monohydricum



C₆H₈O₇ · H₂O

P.t.l: 210,1

Acid citric ngâm một phần tử nước là acid 2-hydroxypropan-1,2,3-tricarboxylic, phải chứa từ 99,5 % đến 101,0 % C₆H₈O₇, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

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

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, E

Nhóm II: A, C, D, E

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

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

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

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

E. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Nước.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V₇, VN₇ hay VL₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chất dễ bị carbon hóa

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

Acid oxalic

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

Hòa tan 0,80 g chế phẩm trong 4 ml nước. Thêm 3 ml acid hydrocloric (TT) và 1 g kẽm (TT) dạng hạt, đun

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

Sulfat

Không được quá 0,015 % (Phụ lục 9.4.14).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 15 ml với cùng dung môi và tiến hành thử.

Nhôm

Không được quá 0,2 phần triệu (Phụ lục 9.4.9).
Nếu chế phẩm được dùng để pha chế dung dịch thẩm phân thì phải đạt phép thử này.
Dung dịch thử: Hòa tan 20 g chế phẩm trong 100 ml *nước*, thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hỗn hợp gồm 2 ml *dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu (TT)*, 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 98 ml *nước*.
Dung dịch mẫu trắng: Hỗn hợp gồm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 100 ml *nước*.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 5,0 g chế phẩm làm nhiều lần trong 39 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, pha loãng với *nước* thành 50 ml. Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Từ 7,5 % đến 9,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Nội độc tố vi khuẩn

Nếu chế phẩm được dùng để pha chế các dạng thuốc tiêm phân liều mà không có phương pháp nào khác để loại nội độc tố vi khuẩn thì chế phẩm phải không được có vượt quá 0,5 đơn vị nội độc tố cho mỗi miligam (Phụ lục 13.2).

Định lượng

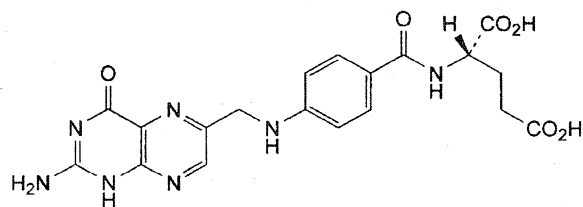
Hòa tan 0,550 g chế phẩm trong 50 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)*, dùng 0,5 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* tương đương với 64,03 mg $C_6H_8O_7$.

Bảo quản

Trong lọ kín.

ACID FOLIC

Acidum folicum



$C_{19}H_{19}N_7O_6$

P.t.l: 441,4

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

Tính chất

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

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B

Nhóm II: A, C

A. Góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4)

Từ $+18^\circ$ đến $+22^\circ$ (tính theo chế phẩm khan)

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

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

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

Bản mỏng: Silica gel G.

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

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

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

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

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

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

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

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

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

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

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

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

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh B (octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký lỏng, hạt tròn, 5 µm), diện tích bề mặt 350 m²/g, kích thước lỗ xốp 10 nm, hàm lượng carbon 12,5 %.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 0,6 ml/min.

Thể tích tiêm: 5 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Độ phân giải giữa hai pic acid folic và acid pterioic (tạp chất D) không được nhỏ hơn 4,0. Thời gian lưu tương đối so với acid folic (khoảng 8,5 phút) của tạp chất A khoảng 0,5; tạp chất B khoảng 0,6; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất E khoảng 1,27; tạp chất D khoảng 1,33; tạp chất F khoảng 2,2. Tiêm dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu (3), (4), (5) và tiếp tục chạy sắc ký trong khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của acid folic. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,5%), diện tích của bất kỳ pic phụ nào tương ứng với tạp chất D không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (0,6 %), diện tích của các pic tạp chất khác ngoài pic chính và các pic

tương ứng với tạp chất A, tạp chất D không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %). Tổng diện tích của bất kỳ pic tạp nào khác ngoài pic chính và các pic tương ứng với tạp chất A, tạp chất D không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %). Bỏ qua những pic của dung môi và các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).

Ghi chú :

Tạp chất A: Acid (2*S*)-2-[(4-aminobenzoyl)amino]pentandioic (acid *N*-(4-aminobenzoyl)-L-glutamic).

Tạp chất B: 2,5,6-triaminopyrimidin-4(1*H*)-on.

Tạp chất C: Acid (2*S*)-2-[[4-[(2-amino-4-oxo-1,4-dihydropteridin-7-yl)methyl]amino]benzoyl]amino]pentandioic (acid isofolic).

Tạp chất D: Acid 4-[(2-amino-4-oxo-1,4-dihydropteridin-6-yl)methyl]amino]benzoic (acid pterioic).

Tạp chất E: Acid (2*S*)-2-[[4-bis[(2-amino-4-oxo-1,4-dihydropteridin-6-yl)methyl]amino]benzoyl]amino]pentandioic (acid 6-pterinylfolic).

Tạp chất F: 2-amino-7-(cloromethyl)pteridin-4(1*H*)-on.

Nước

Từ 5,0 % đến 8,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,150 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký được mô tả ở phần tạp chất liên quan.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng của C₁₉H₁₉N₇O₆ trong acid folic dựa trên diện tích pic của acid folic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của acid folic chuẩn.

Bảo quản

Bảo quản trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Ngăn ngừa và điều trị bệnh thiếu máu.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN ACID FOLIC***Tabellae Acidi folici***

Là viên nén chứa acid folic.

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

Hàm lượng acid folic, C₁₉H₁₉N₇O₆, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu vàng hoặc vàng cam.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac 13,5 M - propanol - ethanol 96 % (20 : 20 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với 0,5 mg acid folic trong 1 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích amoniac 13,5 M (TT) và 9 thể tích methanol (TT). Ly tâm và lấy dung dịch trong để chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch acid folic chuẩn 0,05 % trong hỗn hợp gồm 2 thể tích amoniac 13,5 M (TT) và 9 thể tích methanol (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc huỳnh quang và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Sản phẩm phân hủy

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Tiến hành thử nghiệm trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,05 M (TT) đã được điều chỉnh đến pH 5,5 bằng dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chứa 0,5 μ g/ml acid 4-aminobenzoic và 2,0 μ g/ml acid N-(4-aminobenzoyl)-L-glutamic trong pha động.

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 5,0 mg acid folic với 50,0 ml pha động, ly tâm và sử dụng dung dịch trong.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (20 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (cột Spherisorb C18, 10 μ m là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 269 nm. Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, hệ số phân giải giữa 2 pic tương ứng với acid N-(4-aminobenzoyl)-L-glutamic và acid 4-aminobenzoic không được nhỏ hơn 3.

Diện tích của các pic tương ứng với acid 4-aminobenzoic và acid N-(4-aminobenzoyl)-L-glutamic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích của các pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ đồng đều hàm lượng

Viên nén chứa ít hơn 2 mg acid folic phải đáp ứng yêu cầu "Độ đồng đều hàm lượng" (Phụ lục 11.2).

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Tiến hành thử nghiệm trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: Hỗn hợp dung dịch kali dihydrophosphat 0,05 M (TT) và acetonitril (TT) (93 : 7) được điều chỉnh đến pH 6,0 bằng dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT).

Dung dịch chuẩn: Thêm 1 ml dung dịch acid hydrochloric 0,5 M (TT) vào 5,0 ml dung dịch acid folic chuẩn 0,0020 % trong dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT) và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch thử: Lắc 1 viên với 5 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT) và thêm vừa đủ pha động để được dung dịch có nồng độ acid folic 0,001 %. Ly tâm và sử dụng dung dịch trong.

Điều kiện sắc ký

Cột thép không gỉ (20 cm $\times$ 4,6 mm) chứa pha tĩnh C (cột Spherisorb C18, 10 μ m là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 283 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, trong từng viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{19}H_{19}N_7O_6$ trong acid folic chuẩn.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Tiến hành thử nghiệm trong điều kiện tránh ánh sáng.

Đối với viên nén chứa 2 mg acid folic hoặc nhiều hơn.

Dung dịch chuẩn: Pha loãng 5,0 ml dung dịch acid folic chuẩn 0,020 % trong dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT) thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Lắc một lượng bột viên (cân chính xác) tương ứng khoảng 20 mg acid folic với 50 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT), pha loãng bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT) thành 100,0 ml, ly tâm và pha loãng 5,0 ml dịch trong thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký: Như mô tả trong mục Độ đồng đều hàm lượng.

Tính hàm lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{19}H_{19}N_7O_6$ trong acid folic chuẩn.

Đối với viên nén chứa ít hơn 2 mg acid folic.

Lấy giá trị trung bình của 10 viên trong phép thử Độ đồng đều hàm lượng.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

0,4 mg, 0,8 mg, 1 mg, 5 mg.

ACID HYDROCLORIC

Acidum hydrochloricum

HCl

P.t.l: 36,46

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

Tính chất

Chất lỏng trong và không màu, bốc khói. Hòa trộn ở bất kỳ tỷ lệ nào với nước.

Có tỷ trọng tương đối khoảng 1,18.

Định tính

A. Pha loãng với nước, dung dịch thu được có pH nhỏ hơn 4 (Phụ lục 6.2).

B. Phải cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

C. Đáp ứng giới hạn hàm lượng HCl trong mục Định lượng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

Clor tự do

Không được quá 4 phần triệu.

Thêm 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT), 1 ml dung dịch kali iodid 10 % (TT) và 0,5 ml dung dịch hồ tinh bột không có iodid (TT) mới pha vào 15 ml chế phẩm. Để yên trong tối 2 phút. Bất kỳ màu xanh nào xuất hiện cũng phải biến mất khi thêm 0,2 ml dung dịch natri thiosulfat 0,01 M (CĐ).

Sulfat

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).

Thêm 10 mg natri hydrocarbonat (TT) vào 6,4 ml chế phẩm và bốc hơi đến khô trên cách thủy. Hòa tan căn trong 15 ml nước và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan căn thu được ở mục thử "Căn sau khi bay hơi" trong 1 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT) và pha loãng thành 25 ml bằng nước. Pha loãng 5 ml dung dịch trên thành 20 ml bằng nước. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chỉ mẫu 2 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Căn sau khi bay hơi

Không được quá 0,01 %.

Làm bay hơi 100,0 g chế phẩm trên cách thủy tới khô, và sấy ở 100 °C - 105 °C. Khối lượng căn thu được không được quá 10 mg.

Định lượng

Cân chính xác bình nón nút mài có chứa 30 ml nước. Thêm vào 1,5 ml chế phẩm và cân lại. Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ), dùng dung dịch đồ methyl (TT) làm chỉ thị.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ) tương đương với 36,46 mg HCl.

Bảo quản

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

ACID HYDROCLORIC LOÃNG

Acidum hydrochloricum dilutum

HCl

P.t.l: 36,46

Acid hydrocloric loãng phải chứa từ 9,5 % đến 10,5 % (kl/kl) HCl.

Acid hydrocloric loãng được điều chế bằng cách thêm 726 g nước vào 274 g acid hydrocloric đậm đặc và trộn đều.

Định tính

A. Acid hydrocloric loãng có pH nhỏ hơn 4 (Phụ lục 6.2).

B. Phải cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

C. Đáp ứng giới hạn hàm lượng HCl trong mục Định lượng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Chế phẩm phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Clor tự do

Không được quá 1 phần triệu.

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

Sulfat

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).

Thêm 10 mg natri hydrocarbonat (TT) vào 26 ml chế phẩm và bốc hơi đến khô trên cách thủy. Hòa tan căn trong 15 ml nước và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan căn thu được ở mục thử "Căn sau khi bay hơi" trong 1 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT) và pha loãng thành 25 ml bằng nước. Pha loãng 5 ml dung dịch trên thành 20 ml bằng nước. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chỉ mẫu 2 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Căn sau khi bay hơi

Không được quá 0,01 %.

Làm bay hơi 100,0 g chế phẩm trên cách thủy tới khô, và sấy ở 100 °C đến 105 °C. Khối lượng căn thu được không được quá 10 mg.

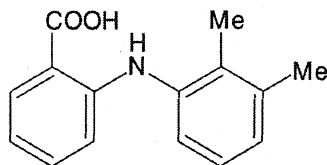
Định lượng

Thêm 30 ml nước vào 6,00 g chế phẩm. Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 1 M (CĐ), dùng dung dịch đỏ methyl (TT) làm chỉ thị.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (CĐ) tương đương với 36,46 mg HCl.

ACID MEFENAMIC

Acidum mefenamicum



$C_{15}H_{15}NO_2$

P.t.l: 241,3

Acid mefenamic là acid 2-[(2,3-dimethylphenyl)amino] benzoic, phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $C_{15}H_{15}NO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột vi tinh thể màu trắng hay gần như trắng.

Thực tế không tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 % và trong methylen clorid. Tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng. Có nhiều dạng tinh thể.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của acid mefenamic chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại của mẫu thử và mẫu chuẩn khác nhau thì hòa tan tách biệt chế phẩm và acid mefenamic chuẩn trong ethanol 96 % (TT), bốc hơi đến khô, ghi phổ mới các cần thu được.

B. Hòa tan 20 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol (1 : 99) và pha loãng thành 100 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 5 ml dung dịch này thành 50 ml với một hỗn hợp dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol (1 : 99). Đo phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này trong khoảng bước sóng từ 250 nm đến 380 nm. Phổ thu được có hai cực đại hấp thụ ở 279 nm và 350 nm. Tỷ số độ hấp thụ đo ở bước sóng cực đại 279 nm so với ở 350 nm khoảng từ 1,1 đến 1,3.

C. Hòa tan khoảng 25 mg chế phẩm trong 15 ml methylen clorid (TT) và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, dung dịch phát huỳnh quang vàng xanh đậm. Thêm từ từ từng giọt 0,5 ml dung dịch bão hòa acid trichloroacetic và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Dung dịch không phát huỳnh quang.

D. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 2 ml acid sulfuric (TT) và thêm 0,05 ml dung dịch kali dicromat 0,5 %, màu xanh đậm tạo thành và nhanh chóng chuyển sang màu xanh lục nâu.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - dioxan - toluen (1 : 25 : 90).

Dung môi hòa tan: Hỗn hợp methanol - methylen clorid (1 : 3).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 50 ml với dung môi hòa tan. Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg acid flufenamic (TT) và 5 mg acid mefenamic chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng không khí ẩm. Đặt bản mỏng vào bình có hơi iod trong 5 phút và quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử: Bất cứ vết tạp nào, ngoài vết chính không được đậm hơn vết trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.

2,3 - Dimethylanilin

Dung môi hòa tan: Hỗn hợp methanol - methylen clorid (1 : 3).

Dung dịch (1): Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch này được dùng để chuẩn bị dung dịch thử.

Dung dịch (2): Hòa tan 50 mg 2,3- dimethylanilin (TT) trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 100 ml với dung môi hòa tan. Dung dịch này được dùng để chuẩn bị dung dịch chuẩn.

Dùng 3 ống thủy tinh đáy bằng: ống thứ nhất lấy 2 ml dung dịch (1); ống thứ hai lấy 1 ml dung dịch (2) và 1 ml dung môi hòa tan; ống thứ ba lấy 2 ml dung môi hòa tan (chuẩn bị mẫu trắng). Thêm vào mỗi ống 1 ml dung dịch dimethylaminobenzaldehyd 1 % trong methanol vừa mới pha và 2 ml acid acetic băng (TT); để yên ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Màu vàng của dung dịch thử có độ đậm ở giữa màu của dung dịch mẫu trắng và dung dịch mẫu chuẩn (100 phần triệu).

Đồng

Không được quá 10 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Lấy 1,00 g chế phẩm vào trong một chén nung, làm ẩm bằng *acid sulfuric* (TT), đun nóng cẩn thận trên ngọn lửa trong 30 phút và sau đó nung từ từ đến 650 °C. Tiếp tục nung đến khi màu đen biến mất. Để nguội, hòa tan cẩn trong *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Các dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị các dung dịch đối chiếu, dùng *dung dịch đồng chuẩn (0,1 % Cu)*, pha loãng nếu cần với *dung dịch acid nitric 0,1 M* (TT).

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 324,8 nm, dùng đèn cathod rỗng đồng làm nguồn bức xạ và ngọn lửa là không khí - acetylen.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

Dùng 1,000 g chế phẩm, sấy ở 100 °C đến 105 °C.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm bằng cách lắc siêu âm trong 100 ml *ethanol 96 %* (TT) ẩm đã được trung hòa trước bằng *dung dịch đỏ phenol* (TT). Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ phenol* (TT) và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (CD).

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (CD) tương ứng với 24,13 mg $C_{15}H_{15}NO_2$.

Bảo quản

Trong chai lọ nút kín, để nơi mát.

Loại thuốc

Thuốc giảm đau, chống viêm.

Chế phẩm

Thuốc nang, viên nén.

VIÊN NÉN ACID MEFENAMIC**Tabellae Acidī mefenamici**

Là viên nén chứa acid mefenamic.

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

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

Tính chất

Viên nén màu trắng, không mùi.

Định tính

Chiết một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 0,25 g acid mefenamic bằng *ether* (TT), 2 lần, mỗi lần 30 ml, gộp dịch chiết ether. Rửa dịch chiết ether thu được bằng *nước*. Bốc hơi dịch chiết ether đến khô trên cách thủy, làm khô cẩn ở 105 °C. Hòa tan cẩn thu được trong một thể tích *ethanol* (TT) tối thiểu và bốc hơi đến khô trên cách thủy.

Phổ hồng ngoại của cẩn thu được (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của acid mefenamic.

2,3-Dimethylanilin

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Amoniac 18 M - 1,4-dioxan - toluen* (1 : 25 : 90)

Dung dịch (1): Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn chứa khoảng 0,25 g acid mefenamic với một hỗn hợp gồm 7,5 ml *dicloromethan* (TT) và 2,5 ml *methanol* (TT) trong 10 phút. Ly tâm lấy dịch trong.

Dung dịch (2): Dung dịch 2,3-dimethylanilin 0,00025 % trong hỗn hợp *dicloromethan - methanol* (3 : 1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 40 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, làm khô bằng một luồng khí nóng, sau đó tiếp tục xử lý bản mỏng như sau: Phun bản mỏng bằng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol 20 %* (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 30 phút và ngay lập tức đặt vào bình thủy tinh kín chứa hơi acid nitric trong 15 phút [hơi acid nitric có thể được tạo ra bằng cách nhỏ từng giọt *dung dịch acid sulfuric 7 M* (TT) vào một dung dịch chứa 10 % *natri nitrit* (TT) và 3 % *kali iodid* (TT)]. Đặt bản mỏng dưới một luồng khí nóng trong 15 phút và phun *dung dịch N-(1-naphthyl)ethylenđiamin dihydroclorid 0,5 % trong ethanol 96 %*. Nếu cần, để khô và phun lại một lần nữa.

Bất kỳ vết nào tương ứng với 2,3-dimethylanilin trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (1) không được đậm hơn vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (2) (100 phần triệu).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Acid acetic băng - 1,4-dioxan - toluen* (1 : 25 : 90)

Dung dịch (1): Dung dịch (1) ở mục 2,3 - Dimethylanilin.

Dung dịch (2): Lấy 0,1 ml dung dịch (1) pha loãng thành 50 ml bằng hỗn hợp *dicloromethan - methanol* (3 : 1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Đặt bản mỏng vào bình

thủy tinh kín chứa hơi iod trong 5 phút và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (1) không được đậm hơn vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (2) (0,2 %). Bỏ qua bất kỳ vết nào có giá trị R_f nhỏ hơn hoặc bằng 0,04.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: Dùng 40 ml *ethanol* (TT) và thêm dung dịch đệm phosphat pH 8,0 tới 800 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 8,0: Hòa tan 5,59 g *dikali hydrophosphat* (TT) và 0,41 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong 1000 ml nước.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Lấy 3,0 ml dịch lọc mẫu thử sau khi hòa tan cho vào bình định mức 200 ml, thêm dung dịch đệm phosphat pH 8,0 (TT) đến vạch, trộn đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg acid mefenamic chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 5 ml *ethanol* (TT) để hòa tan, thêm dung dịch đệm phosphat pH 8,0 đến vạch, trộn đều. Nếu cần thiết, pha loãng với dung dịch đệm phosphat pH 8,0 để thu được dung dịch có nồng độ 10 µg/ml.

Đo độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở 286 nm (Phụ lục 4.1), dùng dung dịch đệm phosphat pH 8,0 làm mẫu trắng. Tính lượng acid mefenamic, $C_{15}H_{15}NO_2$, được hòa tan trong mỗi viên.

Yêu cầu: Không được ít hơn 60 % lượng acid mefenamic, $C_{15}H_{15}NO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,5 g acid mefenamic, thêm khoảng 80 ml *ethanol* (TT) âm đã được trung hòa trước, sử dụng dung dịch đỏ phenol (TT) làm chỉ thị. Hòa tan bằng cách đun nóng và siêu âm xen kẽ nhau. Làm nguội, thêm *ethanol* (TT) đã được trung hòa trước để được khoảng 100 ml, trộn đều và chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ) với chỉ thị là dung dịch đỏ phenol (TT).

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ) tương ứng với 24,13 mg $C_{15}H_{15}NO_2$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô.

Loại thuốc

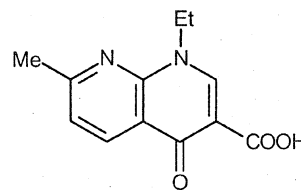
Thuốc kháng viêm không steroid, giảm đau.

Hàm lượng thường dùng

500 mg.

ACID NALIDIXIC

Acidum nalidixicum



$C_{12}H_{12}N_2O_3$

P.t.l: 232,2

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

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng ngà hay vàng nhạt.

Thực tế không tan trong nước, tan trong dicloromethan, khó tan trong aceton và ethanol 96%, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Nóng chảy ở khoảng 230 °C.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của acid nalidixic chuẩn.

B. Hòa tan 12,5 mg chế phẩm trong dung dịch natri hydroxyd 0,1 M và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm, dung dịch cho 2 cực đại hấp thụ ở 258 nm và 334 nm. Tỷ lệ giữa độ hấp thụ đo được ở 258 nm và 334 nm phải từ 2,2 đến 2,4.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml acid hydrocloric (TT). Thêm 0,5 ml dung dịch β -naphthol 10 % trong ethanol 96 %. Sẽ xuất hiện màu đỏ cam.

D. Kiểm tra sắc ký đồ ở mục thử "Tập chất liên quan": Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải giống về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ hấp thụ

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

Tập chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254} .

Hệ dung môi: Dung dịch amoniac 10 % - dicloromethan - ethanol 96 % (10 : 20 : 70).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *dicloromethan* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 20 ml bằng *dicloromethan* (TT).

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

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2 ml dung dịch thử (2) thành 10 ml bằng *dicloromethan* (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10 ml bằng *dicloromethan* (TT).

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 25 ml bằng *dicloromethan* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), ngoài vết chính, không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %) và không được có quá một vết như vậy đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4).

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4.

Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 10 ml *dicloromethan* (TT), thêm 30 ml *isopropanol* (TT) và 10 ml *nước không có carbon dioxyl* (TT). Đậy kín cốc chuẩn độ và sục khí *nitrogen* (TT) qua dung dịch trong suốt quá trình chuẩn độ. Giữ nhiệt độ của dung dịch này trong khoảng từ 15 °C đến 20 °C. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M trong ethanol* (CD). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng điện cực so sánh bạc-bạc clorid với một màng ngăn hình ống bao ngoài hoặc một đầu mao quản chứa đầy *dung dịch lithi clorid bão hòa trong ethanol* và một điện cực thủy tinh làm điện cực chỉ thị.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M trong ethanol* (CD) tương đương với 23,22 mg $C_{12}H_{12}N_2O_3$.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nén, dịch treo uống.

VIÊN NÉN ACID NALIDIXIC

Tabellae Acidi nalidixici

Là viên nén bao phim chứa acid nalidixic.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

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

Tính chất

Viên bao phim, bề mặt nhẵn bóng, không nứt cạnh, không dính tay.

Định tính

Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1,0 g acid nalidixic, thêm 50 ml *cloroform* (TT), lắc 15 phút, lọc và bay hơi dịch lọc đến cạn. Lấy cặn (sau khi sấy ở 105 °C) làm các phản ứng sau đây:

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của acid nalidixic chuẩn.

B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm 0,0008 % trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (TT) trong khoảng 230 đến 350 nm có hai cực đại hấp thụ ở 258 nm và 334 nm.

C. Cặn có nhiệt độ nóng chảy khoảng 228 °C (Phụ lục 6.7).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm methanol-phosphat được pha như sau: Trộn 2,3 thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M* (TT) với 2,5 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M* (TT) và 2,0 thể tích *methanol* (TT), pha loãng thành 10 thể tích với *nước*, chỉnh pH đến 8,6 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (TT).

Tốc độ quay: 60 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc bằng môi trường hòa tan (nếu cần). Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử ở bước sóng hấp thụ cực đại 334 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính hàm lượng acid nalidixic, $C_{12}H_{12}N_2O_3$, đã hòa tan trong mỗi viên theo A (1%, 1 cm), lấy 494 là giá trị A (1%, 1 cm) ở cực đại 334 nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng acid nalidixic, $C_{12}H_{12}N_2O_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 5 M - dicloromethan - ethanol 96 % (10 : 20 : 70)

Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 0,10 g acid nalidixic, thêm 50 ml dicloromethan (TT), lắc trong 15 phút. Lọc, bay hơi dịch lọc đến gần và hòa tan gần trong 5 ml dicloromethan (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hút chính xác 1 ml dung dịch thử pha loãng đến 200 ml bằng dicloromethan (TT). Sau đó hút chính xác 10 ml dung dịch này pha loãng đến 20 ml bằng dicloromethan (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hút chính xác 10 ml dung dịch đối chiếu (1) pha loãng đến 25 ml bằng dicloromethan (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,25 %) và không được có quá một vết phụ có màu đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1%).

Định lượng

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

Bảo quản

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

Loại thuốc

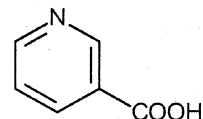
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

0,25 g, 0,5 g, 1,0 g.

ACID NICOTINIC

Acidum nicotinicum



$C_6H_5NO_2$

P.t.l: 123,1

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

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng.

Tan trong nước sôi và ethanol 96 % sôi, hơi tan trong nước. Tan trong các dung dịch kiềm hydroxyd và carbonat loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: A, C.

A. Điểm chảy từ 234 °C đến 240 °C (Phụ lục 6.7).

B. Phổ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại của acid nicotinic chuẩn.

C. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 10 ml nước. Lấy 2 ml dung dịch trên, thêm 2 ml dung dịch cyanogen bromid (TT) và 3 ml dung dịch anilin 2,5 % (TT), lắc đều, màu vàng xuất hiện.

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,5 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Nước - acid formic khan - propanol (5 : 10 : 85).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong nước, làm nóng nhẹ nếu cần thiết và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng nước.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai bản mỏng đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy khô bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 10 phút và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu.

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong nước bằng cách đun nóng trên cách thủy và pha loãng thành 15 ml với cùng dung môi rồi tiến hành thử.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 1 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đến khi màu hồng xuất hiện, dùng 0,25 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị. Song song tiến hành mẫu trắng.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 12,31 mg $C_6H_5NO_2$.

Bảo quản

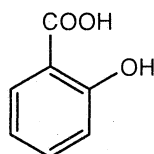
Tránh ánh sáng.

Chế phẩm

Viên nén.

ACID SALICYLIC

Acidum salicylicum



$C_7H_6O_3$

P.t.l: 138,1

Acid salicylic là acid 2-hydroxybenzencarboxylic, phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $C_7H_6O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể hình kim màu trắng hoặc không màu hay bột kết tinh trắng. Khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 % và ether, hơi tan trong cloroform. Dung dịch chế phẩm có phản ứng acid.

Định tính

Chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: A, C.

A. Điểm chảy: 158 °C đến 161 °C (Phụ lục 6.7).

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của acid salicylic chuẩn.

C. Hòa tan khoảng 30 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M*, trung hòa nếu cần và pha

loãng thành 20 ml bằng *nước*. 1 ml dung dịch này cho phản ứng A của ion salicylat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10,0 ml *ethanol 96 % (TT)*. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acid acetic băng - methanol - nước (1 : 40 : 60).

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

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg phenol chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg tạp chất chuẩn B của acid salicylic (acid 4-hydroxyisophtalic) trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 50 mg acid 4-hydroxybenzoic (TT) trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng hỗn hợp của 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1), 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2), 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (6): Pha loãng hỗn hợp của 0,1 ml dung dịch đối chiếu (1), 0,1 ml dung dịch đối chiếu (2), 0,1 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 10,0 ml bằng pha động.

Thực hiện quá trình sắc ký như sau:

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 μm).

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

Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (4) và dung dịch đối chiếu (5) trong điều kiện mô tả như trên. Sắc ký đồ thu được phải có thời gian lưu tương đối lần lượt của acid 4-hydroxybenzoic đối với phenol là khoảng 0,70, của acid 4-hydroxyisophtalic đối với phenol là khoảng 0,90.

Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) bằng ít nhất 70 % chiều cao của toàn thang sắc ký đồ. Thử nghiệm này không có giá trị khi mà pic thứ ba trong sắc ký đồ của dung dịch (5) không tương ứng với pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) và độ phân giải của pic tương ứng acid 4-hydroxyisophtalic với pic tương ứng phenol là nhỏ hơn 1. Nếu điều kiện về độ phân giải này không đạt, có thể điều chỉnh lượng acid acetic trong pha động.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (6).

Diện tích của những pic tương ứng với acid 4-hydroxybenzoic, với acid 4-hydroxyisophtalic, và phenol trong sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích của những pic tương ứng lần lượt như trên trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (0,1 % của acid 4-hydroxybenzoic; 0,05 % của acid 4-hydroxyisophtalic và 0,02 % của phenol).

Diện tích của bất cứ pic nào, ngoại trừ pic chính và những pic tương ứng với acid 4-hydroxybenzoic, với acid 4-hydroxyisophtalic, và phenol trong sắc ký đồ của dung dịch thử thì không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng với acid 4-hydroxyisophtalic trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (0,05 %).

Tổng diện tích các pic phụ trong sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn hai lần diện tích của pic tương ứng với acid 4-hydroxybenzoic trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (0,2 %). Bỏ qua tất cả các pic mà diện tích nhỏ hơn 0,01 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6).

Clorid

Không được quá 100 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 50 ml nước đun sôi, để nguội và lọc.

Lấy 10 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,020 % (Phụ lục 9.4.14).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 5 ml *dimethylformamid* (TT) và thêm 4 ml nước. Trộn đều. Thêm 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng* (TT) và 0,5 ml *dung dịch bari clorid 25 %*. Sau 15 phút, dung dịch thu được không được đục hơn dung dịch đối chiếu được chuẩn bị như sau: Thêm 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng* (TT), 0,5 ml *dung dịch bari clorid 25 %*, 3 ml nước và 5 ml *dimethylformamid* (TT) vào 2 ml *dung dịch sulfat mẫu 100 phần triệu*, trộn đều.

Kim loại nặng

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

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 15 ml *ethanol 96 %* (TT), sau đó thêm 5 ml nước. Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 2. Dùng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu* (TT) pha loãng bằng hỗn hợp *ethanol 96 % - nước* (3 : 1) để được dung dịch chì mẫu 2 phần triệu dùng chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; áp suất giảm; silica gel).

Tro sulfat

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

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan khoảng 0,120 g chế phẩm trong 30 ml *ethanol 96 %* (TT), thêm 20 ml nước và 0,1 ml *dung dịch đỏ phenol* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ) cho đến khi màu chuyển từ vàng sang đỏ tím.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ) tương đương với 13,81 mg $C_7H_6O_3$.

Bảo quản

Chế phẩm được bảo quản trong chai lọ nút kín, tránh ánh sáng.

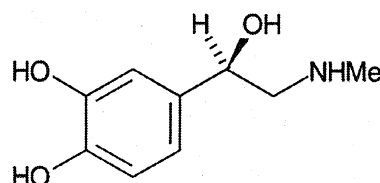
Loại thuốc

Thuốc trơn lớp sừng da, chống bài tiết bã nhờn, trị vảy nến, chất ăn da.

ADRENALIN

Adrenalinum

Epinephrin



$C_9H_{13}NO_3$

P.t.l: 183,2

Adrenalin là (*R*)-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-methylaminoethanol, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_9H_{13}NO_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh tròn dẹt, màu trắng hoặc trắng kem. Bị sẫm màu khi tiếp xúc với không khí và ánh sáng.

Thực tế không tan trong *ethanol 96 %* và ether, hơi tan trong nước, tan trong các dung dịch acid vô cơ, kali hydroxyd và natri hydroxyd, nhưng không tan trong các dung dịch amoniac hoặc carbonat kiềm.

Adrenalin không bền vững trong dung dịch trung tính hoặc dung dịch kiềm, các dung dịch này nhanh chóng biến thành màu đỏ khi tiếp xúc với không khí.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của adrenalin.

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

Góc quay cực riêng

Từ -50° đến -53° , tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chế phẩm 4,0 % trong *dung dịch acid hydrocloric 1 M* (TT) mới pha để đo.

Noradrenalin

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Là dung dịch chứa 4,0 g *tetramethylamoni hydrosulfat* (TT), 1,1 g *natri heptansulfonat* (TT) và 2 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M* (TT) trong hỗn hợp gồm 950 ml *nước* và 50 ml *methanol* (TT), pH của hỗn hợp này đã được điều chỉnh đến 3,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT).

Dung dịch thử: Chứa 0,10 % chế phẩm và 1,0 % (tt/tt) *acid hydrochloric* (TT) trong pha động.

Dung dịch chuẩn: Chứa 0,0018 % *noradrenalin acid tartrat* trong pha động.

Dung dịch phân giải: Chứa 0,0018 % *noradrenalin acid tartrat* và 0,0018 % *adrenalin acid tartrat* chuẩn trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ, kích thước 10 cm × 4,6 mm được nhồi pha tĩnh C (5 μm) (cột Nucleosil ODS là thích hợp).

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

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic chính của dung dịch phân giải ít nhất là 2,0.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với *noradrenalin* không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (1 %).

Các phenon

Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm 0,2 % trong *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT) đo ở bước sóng 310 nm không được lớn hơn 0,20, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; áp suất không quá 0,7 kPa; phosphor pentoxyd; 18 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan* (TT) và chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ), dùng 0,1 ml *dung dịch tím tinh thể* (TT) làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 18,32 mg $C_9H_{13}NO_3$.

Bảo quản

Adrenalin phải được bảo quản trong lọ kín, đóng đầy khí nitơ và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chất chủ vận beta-adrenoceptor, dùng điều trị glôcôm.

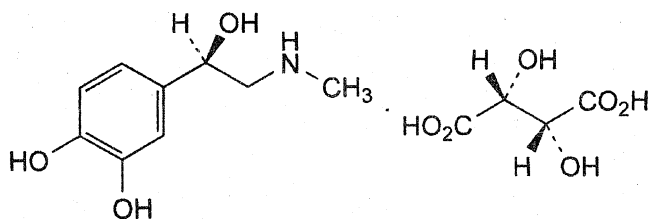
Chế phẩm

Thuốc nhỏ mắt. Thuốc tiêm *adrenalin* loãng (1 trong 10.000).

ADRENALIN ACID TARTRAT

Adrenalinum acidum tartras

Adrenalin tartrat



$C_9H_{13}NO_3 \cdot C_4H_6O_6$

P.t.l: 333,3

Adrenalin acid tartrat là (1*R*)-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(methylamino)ethanol hydrogen (2*R*,3*R*)-2,3-dihydroxybutandioat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_9H_{13}NO_3 \cdot C_4H_6O_6$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc trắng hơi xám. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Hòa tan 2 g chế phẩm trong 20 ml *dung dịch natri metabisulfite 0,5 %* và kiểm hóa bằng cách thêm *amoniac* (TT). Để hỗn hợp trong nước đá 1 giờ rồi lọc. Dịch lọc dùng để thử phản ứng C. Rửa rửa 3 lần, mỗi lần với 2 ml *nước*, sau đó rửa bằng 5 ml *ethanol 96 %* (TT) và cuối cùng rửa bằng 5 ml *ether* (TT). Làm khô trong chân không 3 giờ. Góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4) của tủa (*adrenalin base*) từ -50° đến -54° . Điều chế dung dịch 2 % tủa trong *dung dịch acid hydrochloric 0,5 M* (TT) để đo.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa (*adrenalin base*) được điều chế như phép thử A phải phù hợp với phổ hồng ngoại của *adrenalin base* thu được từ *adrenalin acid tartrat* chuẩn bằng phương pháp như mô tả trong phép thử A. Chuẩn bị mẫu đo dưới dạng đĩa nén.

C. 0,2 ml dịch lọc trong phép thử A phải cho phản ứng B của tartrat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Kiểm tra ngay độ trong và màu sắc của dung dịch này.

Dung dịch không được đục hơn hỗn dịch chuẩn đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của dung dịch màu mẫu VN₅ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Adrenalon

Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrochloric 0,01 M* và pha loãng thành 25,0 ml với

cùng dung môi. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này ở bước sóng 310 nm không được lớn hơn 0,10.

Noradrenalin

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Acid formic khan - aceton - dicloromethan (0,5 : 50 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 12,5 mg noradrenalin tartrat chuẩn trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (3): Trộn 2 ml dung dịch thử với 2 ml dung dịch đối chiếu (2).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng thành dải vạch (20 mm × 2 mm) 6 μ l dung dịch thử, 6 μ l dung dịch đối chiếu (1), 6 μ l dung dịch đối chiếu (2) và 12 μ l dung dịch đối chiếu (3). Để khô và phun lên các dải *dung dịch bão hòa natri hydrocarbonat (TT)*. Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun *anhydrid acetic (TT)* lên các dải, phun 2 lần. Sấy khô giữa hai lần phun. Sấy bản mỏng ở 50 °C trong 90 phút. Triển khai sắc ký đồ đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun lên bản mỏng dung dịch gồm 2 thể tích *ethylendiamin (TT)*, 8 thể tích *methanol (TT)* và 2 thể tích *dung dịch kali fericyanid 0,5 %* mới pha. Sấy khô bản mỏng ở 60 °C trong 10 phút và quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm và 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vùng nào nằm giữa hai vùng có cường độ màu đậm nhất cũng không được đậm màu hơn vùng tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), giữa hai vùng có cường độ màu đậm nhất, có một vùng tương ứng với vùng đậm nhất trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) được tách ra rõ rệt.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; chân không; 18 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*, đun nóng nếu cần và chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* đến màu xanh. Dùng 0,1 ml *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 33,33 mg $C_9H_{13}NO_3 \cdot C_4H_6O_6$.

Bảo quản

Bảo quản trong lọ kín hoặc ống hàn kín, đóng trong điều kiện chân không hoặc nạp đầy khí trơ, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chủ vận beta-adrenoceptor.

Chế phẩm

Thuốc tiêm adrenalin

Thuốc tiêm adrenalin loãng (1 trong 10.000)

Dung dịch adrenalin

Thuốc tiêm bupivacain và adrenalin

Thuốc tiêm lidocain và adrenalin.

THUỐC TIÊM ADRENALIN

Injectio Adrenalin

Thuốc tiêm epinephrin

Là dung dịch vô khuẩn đẳng trương của adrenalin tartrat 0,18 % trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng adrenalin, $C_9H_{13}NO_3$, từ 0,09 g đến 0,11 g trong 100 ml chế phẩm.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

A. Trong phần định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm từng giọt *dung dịch sắt (III) clorid 0,25 % (TT)* đến khi màu xanh lục xuất hiện. Thêm từ từ *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)*, dung dịch chuyển sang màu xanh lam và sau đó chuyển sang màu đỏ.

C. Lấy 10 ml chế phẩm, thêm 2 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 10 % (TT)*, thêm *dung dịch iod-iodid (TT)* vừa đủ để có màu nâu và thêm từng giọt *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (TT)* để loại bỏ lượng thừa iod, sẽ xuất hiện màu đỏ.

pH

Từ 2,8 đến 3,6 (Phụ lục 6.2).

Noradrenalin

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch chứa 4 g *tetramethylamoni hydrosulfat (TT)*, 1,1 g *natri heptansulfonat (TT)* và 2 ml

dung dịch Trilon B 0,1 M (TT) trong hỗn hợp gồm 950 ml nước và 50 ml methanol (TT), điều chỉnh pH 3,5 bằng dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch noradrenalin tartrat 0,0018 % trong pha động.

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm.

Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa adrenalin tartrat chuẩn 0,0018 % và noradrenalin tartrat 0,0018 % trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không rỉ (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Nucleosil C18 là thích hợp).

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

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch phân giải không nhỏ hơn 2,0.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với noradrenalin thì không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động và điều kiện sắc ký: Như mô tả trong mục "Noradrenalin".

Dung dịch chuẩn: Dung dịch adrenalin tartrat chuẩn 0,02 % trong pha động.

Dung dịch thử: Pha loãng 1 thể tích chế phẩm thành 10 thể tích bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Dung dịch adrenalin tartrat chuẩn 0,02 % và noradrenalin tartrat 0,02 % trong pha động.

Cách tiến hành:

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch phân giải không nhỏ hơn 2,0.

Tính hàm lượng của adrenalin, $C_9H_{13}NO_3$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_9H_{13}NO_3$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

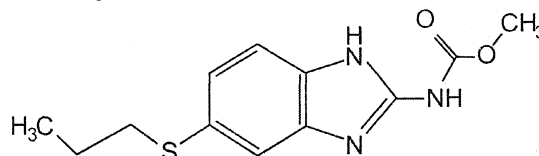
Thuốc kích thích giao cảm.

Hàm lượng thường dùng

1 mg/ml.

ALBENDAZOL

Albendazolum



$C_{12}H_{15}N_3O_2S$

P.t.l: 265,3

Albendazol là methyl [5-(propylsulfanyl)-1H-benzimidazol-2-yl] carbamat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hay hơi vàng.

Dễ tan trong acid formic khan và dimethylformamid, hơi tan trong methanol và cloroform, rất khó tan trong methylen clorid, thực tế không tan trong nước và ethanol 96 %.

Định tính

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong hỗn hợp acid formic khan - methylen clorid (1 : 9) để được 10 ml. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch amoni dihydrophosphat 0,167 % - methanol (300 : 700).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong 5 ml methanol (TT) có chứa 1 % (tt/tt) acid sulfuric (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 10 ml methanol (TT) có chứa 1% (tt/tt) acid sulfuric (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 0,5 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm và 50 mg oxybendazol chuẩn trong 5 ml methanol (TT) có chứa 1 % (tt/tt) acid sulfuric (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4,6 mm) được nhồi end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 µm), kích thước lỗ xốp là 10 nm, hàm lượng carbon khoảng 19 %.

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

Tốc độ dòng: 0,7 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ

ít nhất bằng 50 % thang đo. Tiêm dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với albendazol và oxybendazol không nhỏ hơn 3,0.

Tiêm dung dịch thử. Tiếp tục chạy sắc ký trong khoảng thời gian bằng 1,5 lần thời gian lưu của albendazol. Ghi các sắc ký đồ thu được trong điều kiện đã nêu, thời gian lưu tương đối của tạp chất A khoảng 0,80, tạp chất B và C khoảng 0,43, tạp chất D khoảng 0,40, tạp chất E khoảng 0,47 và tạp chất F khoảng 0,57. Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào, ngoài pic chính, không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,75 %) và tổng diện tích của các pic phụ không lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1,5 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Ghi chú:

Tạp chất A: 5-(propylsulphonyl)-1*H*-benzimidazol-2-amin.

Tạp chất B: methyl [5-(propylsulphonyl)-1*H*-benzimidazol-2-yl]carbamate.

Tạp chất C: methyl [5-(propylsulphonyl)-1*H*-benzimidazol-2-yl]carbamate.

Tạp chất D: 5-(propylsulphonyl)-1*H*-benzimidazol-2-amin.

Tạp chất E: methyl (1*H*-benzimidazol-2-yl)carbamate.

Tạp chất F: methyl [5-(methylsulphonyl)-1*H*-benzimidazol-2-yl]carbamate.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 4 h).

Tro sulfat

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

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 3 ml *acid formic khan* (TT) và thêm 40 ml *acid acetic khan* (TT).

Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CD). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Không để nhiệt độ cao trong khi chuẩn độ, lắc thật kỹ và dừng ngay chuẩn độ khi đến điểm kết thúc.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CD) tương đương với 26,53 mg $C_{12}H_{15}N_3O_2S$.

Bảo quản

Đề nơi tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc giun.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN ALBENDAZOL

Tabellae Albendazoli

Là viên nén chứa albendazol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng albendazol, $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254} .

Dung môi khai triển: Cloroform - acid acetic băng - ether (60 : 10 : 10).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột viên đã nghiền mịn chứa khoảng 100 mg albendazol trong 20 ml *acid acetic băng* (TT). Lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg albendazol chuẩn trong 5 ml *acid acetic băng* (TT).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để bay hơi hết dung môi. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có giá trị R_f và màu sắc tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Phổ hấp thụ của dung dịch thử trong phần định lượng phải cho đỉnh hấp thụ cực đại ở bước sóng 308 ± 1 nm (Phụ lục 4.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Dung dịch methanol acid: Lấy 50 ml *methanol* (TT) cho vào bình định mức 100 ml, thêm 2 ml *acid hydrochloric* (TT), pha loãng vừa đủ với *methanol* (TT) đến vạch.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 90 mg albendazol chuẩn cho vào bình định mức 250 ml, thêm 10 ml *dung dịch methanol acid*, lắc để hòa tan. Pha loãng với *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT) vừa đủ đến vạch và lắc đều. Lấy 5,0 ml dung dịch này cho vào bình định mức 200 ml, pha loãng với *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Cách tiến hành:

Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (TT) để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với dung dịch chuẩn. Đo độ hấp thụ của dung dịch này và dung dịch

chuẩn ở bước sóng cực đại khoảng 308 nm và cực tiểu khoảng 350 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm. Dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng albendazol, $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, đã hòa tan theo cách tính ở phần định lượng.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % hàm lượng albendazol, $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, so với hàm lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Dung dịch thử: Cân 20 viên và tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột tương ứng với khoảng 0,1 g albendazol vào bình định mức 250 ml, thêm 150 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M trong methanol (TT)*, lắc cho tan hoàn toàn. Sau đó thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M trong methanol (TT)* vừa đủ đến vạch. Lắc đều, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc cho vào bình định mức 250 ml, pha loãng với *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Tiến hành như với dung dịch thử, thay bột viên bằng 100 mg albendazol chuẩn.

Đo độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại khoảng 308 nm và cực tiểu khoảng 350 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm. Dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ dựa theo hàm lượng của albendazol chuẩn và tỷ số của hiệu số độ hấp thụ ở 2 bước sóng cực đại, cực tiểu của dung dịch thử so với dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Đóng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

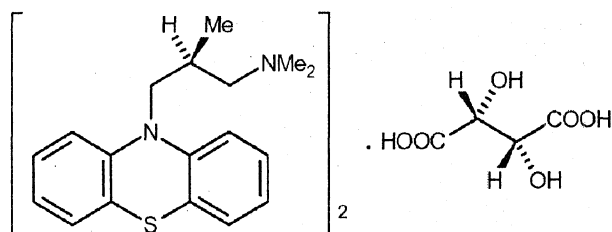
Thuốc chống giun sán phổ rộng.

Hàm lượng thường dùng

200 mg, 400 mg.

ALIMEMAZIN TARTRAT

Alimemazini tartras



và đồng phân đối quang

$(C_{18}H_{22}N_2S)_2 \cdot C_4H_6O_6$

P.t.l: 747,0

Alimemazin tartrat là (RS)-dimethyl (2-methyl-3-phenothiazin-10-ylpropyl)amin (2R,3R)-tartrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $(C_{18}H_{22}N_2S)_2 \cdot C_4H_6O_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hay màu kem nhạt, không mùi hoặc gần như không mùi. Bị sẫm màu dần dưới tác động của ánh sáng.

Dễ tan trong nước và cloroform, hơi tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong ether.

Định tính

A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *nước* và thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Chiết với 25 ml *ether (TT)*, rửa dịch chiết bằng 5 ml *nước*, làm khan dịch chiết bằng *natri sulfat khan (TT)*, bốc hơi đến khô và hòa tan cân thu được trong 1 ml *cloroform (TT)*. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của alimemazin.

B. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm của dung dịch chế phẩm 0,0008 % pha trong hỗn hợp *dung dịch amoniac 5 M - methanol (1 : 99)*, cho một cực đại hấp thụ ở 255 nm và một cực đại kém rõ rệt hơn ở 301 nm. Độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 255 nm là khoảng 0,70.

C. Thêm 0,05 ml một hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch formaldehyd (TT)* và *acid sulfuric (TT)* vào 1 mg chế phẩm. Màu đỏ tía sẽ được tạo thành.

D. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 1,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)* và chiết 2 lần mỗi lần với 10 ml *ether (TT)*. Lấy 2 ml của lớp nước, thêm *dung dịch acid acetic 6 M (TT)* cho đến khi dung dịch có phản ứng acid với giấy quỳ và thêm 1 ml *dung dịch amoni vanadat (TT)*. Màu đỏ da cam sẽ được tạo thành.

pH

pH của dung dịch 2 % phải từ 5,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Điểm chảy

Từ 159 °C đến 163 °C (Phụ lục 6.7).

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,5 %.

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tiến hành tránh ánh sáng.

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Aceton - diethylamin - cyclohexan (10 : 10 : 80).

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm 2,0 %, pha trong hỗn hợp *methanol - diethylamin (95 : 5)*.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chế phẩm 0,010 %, pha trong hỗn hợp *methanol - diethylamin (95 : 5)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên vừa được pha. Triển khai sắc ký

tới khi dung môi đi được 12 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bỏ qua các vết sắc ký tại vạch xuất phát, bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử ngoài vết chính không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; áp suất không quá 0,7 kPa; 100 °C).

Tro sulfat

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

Định lượng

Chuẩn độ môi trường khan theo phương pháp 1 (Phụ lục 10.6). Cân 1,00 g chế phẩm và dùng *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 M (CD)* tương đương với 37,35 mg ($C_{18}H_{22}N_2S_2$), $C_4H_6O_6$.

Bảo quản

Bảo quản tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Đối kháng thụ thể histamin H_1 , thuốc an thần.

Chế phẩm

Viên nén, dung dịch uống dùng cho trẻ em.

VIÊN NÉN ALIMEMAZIN

Tabellea Alimemazini

Viên nén trimeprazin

Là viên nén chứa alimemazin tartrat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng alimemazin tartrat, $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O_6$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng, không mùi.

Định tính

A. Thêm 10 ml *nước* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* vào một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 40 mg alimemazin tartrat. Lắc, chiết với 15 ml *ether (TT)*. Rửa lớp ether với 5 ml *nước*. Loại nước bằng *natri sulfat khan (TT)*, bốc hơi ether đến khô trên cách thủy. Hòa tan cặn trong 0,4 ml *cloroform (TT)*. Phổ hấp thụ hồng ngoại của dung dịch cloroform thu được (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của alimemazin.

B. Thêm 1 ml hỗn hợp đồng thể tích của *formaldehyd (TT)* và *acid sulfuric (TT)* vào một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1 mg alimemazin tartrat. Màu đỏ xuất hiện.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Aceton - diethylamin - cyclohexan (10 : 10 : 80).

Dung dịch thử: Chiết một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 0,1 g alimemazin tartrat với 10 ml hỗn hợp dung môi *methanol - diethylamin (95 : 5)*, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng dung dịch (1) thành 200 lần với cùng hỗn hợp dung môi trên.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên (mới pha). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Bỏ qua bất kỳ vết nào còn nằm tại điểm chấm sắc ký.

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch *natri heptansulfonat (TT)* 0,005 M trong hỗn hợp *methanol - nước - dung dịch acid acetic 6 M (65 : 34 : 1)* điều chỉnh tỷ lệ các thành phần dung môi nếu cần.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 5 mg alimemazin tartrat, cho vào bình định mức 100 ml, hòa tan trong pha động và thêm pha động đến vừa đủ. Lắc đều và lọc.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch alimemazin tartrat chuẩn 0,005 % trong pha động (0,05 mg/ml).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký lần lượt các dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng phần trăm alimemazin tartrat, $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O_6$, trong chế phẩm dựa theo diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O_6$ đã biết của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

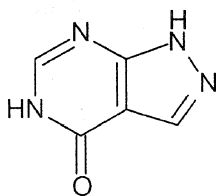
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng histamin H_1 ; thuốc an thần.

Hàm lượng thường dùng

5 mg.

ALOPURINOL***Allopurinolum***C₅H₄N₄O

P.t.l: 136,1

Allopurinol là 1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % C₅H₄N₄O, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng hay gần như trắng.

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

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của allopurinol chuẩn.

B. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng từ 220 nm đến 350 nm, dung dịch thu được phải cho một cực đại hấp thụ ở 250 nm và một cực tiểu hấp thụ ở 231 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở bước sóng cực tiểu 231 nm và độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 250 nm phải từ 0,52 đến 0,62.

C. Hòa tan 0,3 g chế phẩm trong 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và thêm 50 ml nước. Thêm từ từ và vừa thêm vừa lắc 5 ml *dung dịch bạc nitrat 4,25 % (TT₁)*. Tạo thành tủa trắng, không tan khi cho thêm 5 ml *amoniac (TT)*.

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

Bản mỏng: Silica gel F₂₅₄.

Hệ dung môi: Ethanol - dicloromethan (40 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *amoniac đậm đặc (TT)* và pha loãng đến 10 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg allopurinol chuẩn trong *amoniac đậm đặc (TT)* và pha loãng đến 10 ml bằng cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử

phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và kích thước.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 20 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu mẫu V₆ hoặc VL₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), như mô tả trong phần Định lượng.

Tiêm 20 µl dung dịch đối chiếu (2). Khi sắc ký đồ được ghi trong điều kiện đã nêu, các chất sẽ có thời gian lưu như sau: tạp chất A khoảng 4,2 phút; tạp chất B và C khoảng 6,1 phút; allopurinol khoảng 7,7 phút; tạp chất D khoảng 26,1 phút, tạp chất E khoảng 27,8 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tương ứng với tạp chất A và allopurinol ít nhất là 3,0.

Tiêm 20 µl dung dịch thử (1) và 20 µl dung dịch đối chiếu (1). Ghi sắc ký đồ của dung dịch thử (1) với thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của allopurinol. Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1): diện tích của pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic của tạp chất A trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %); diện tích của pic đôi chưa tách khỏi nhau tương ứng với tạp chất B và C không được lớn hơn diện tích pic đôi của tạp chất B và C trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %); diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với tạp chất D hoặc tạp chất E không được lớn hơn diện tích các pic của tạp chất D hoặc E trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %); diện tích của bất kỳ pic nào ngoài pic chính và các pic tương ứng với tạp chất A, B, C, D và E, không được lớn hơn diện tích của pic allopurinol trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %); tổng diện tích các pic này không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic allopurinol trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %). Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic allopurinol trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1).

Ghi chú:

Tạp chất A: 5-amino-1H-pyrazol-4-carboxamid.

Tạp chất B: 5-(formylamino)-1H-pyrazol-4-carboxamid.

Tạp chất C: 5-(4H-1,2,4-triazol-4-yl)-1H-pyrazol-4-carboxamid.

Tạp chất D: ethyl 5-amino-1H-pyrazol-4-carboxylat.

Tạp chất E: ethyl 5-(formylamino)-1H-pyrazol-4-carboxylat.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi tiêm.

Pha động:

Pha động A: *Dung dịch kali dihydrophosphat 0,125 %*.

Pha động B: *Methanol (TT)*.

Pha động được sử dụng theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (%)	Pha động B (%)	Ghi chú
0 - 30	90 → 70	10 → 30	Chương trình gradient tuyến tính

Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp gồm 2 thể tích pha động B và 8 thể tích pha động A.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* và ngay lập tức pha loãng thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* và ngay lập tức pha loãng thành 250,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu. Pha loãng tiếp 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg tạp chất A chuẩn của alopurinol; 5,0 mg tạp chất B chuẩn của alopurinol; 5,0 mg tạp chất C chuẩn của alopurinol; 5,0 mg tạp chất D chuẩn của alopurinol và 5,0 mg tạp chất E chuẩn của alopurinol trong 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*. Thêm 20,0 ml dung dịch thử (1) và ngay lập tức pha loãng thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20,0 mg alopurinol chuẩn trong 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* và ngay lập tức pha loãng thành 250,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch đối chiếu (3). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic

chính đạt ít nhất 50 % của thang đo. Tiêm dung dịch thử (2). Dựa vào sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) để tính hàm lượng phần trăm alopurinol.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc

Dùng trong điều trị bệnh gút.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN ALOPURINOL
Tabellae Allopurinoli

Là viên nén chứa alopurinol.

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

Hàm lượng alopurinol, $C_5H_4N_4O$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Trong phần định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng từ 230 đến 350 nm có một cực đại ở bước sóng 250 nm.

B. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g alopurinol với 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1,25 M (TT)* và thêm 3 ml *dung dịch phosphomolybdotungstic (TT)* và 5 ml *dung dịch natri carbonat 20 % (TT)*, màu xanh xám sẽ xuất hiện.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Hỗn hợp gồm 1 thể tích *methanol* và 9 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 0,125 %*.

Pha động B: Hỗn hợp gồm 3 thể tích *methanol* và 7 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 0,125 %*.

Dung dịch (1): Lấy một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g alopurinol cho vào bình định mức 200 ml, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, siêu âm trong 1 phút và thêm ngay pha động A đến định mức, lắc đều, lọc.

Dung dịch (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch (1) thành 100,0 ml bằng pha động A và tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch trên thành 10,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch (3): Hòa tan 10 mg tạp chất alopurinol A chuẩn và 5 mg mỗi tạp chất sau: Tạp chất alopurinol B chuẩn, tạp chất alopurinol C chuẩn, tạp chất alopurinol D chuẩn và tạp chất alopurinol E chuẩn bằng pha động; thêm 20 ml dung dịch (1) vào và thêm ngay

pha động A vừa đủ 100 ml, pha loãng 1 ml dung dịch trên thành 100 ml với pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 30 °C

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình gradient tuyến tính như bảng sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0	100	0
30	0	100

Trên sắc ký đồ của dung dịch (3), thời gian lưu của hoạt chất và các tạp như sau: Tạp A khoảng 4,2 phút; tạp B và tạp C khoảng 6,1 phút; alopurinol khoảng 7,7 phút; tạp D khoảng 26,1 phút; tạp E khoảng 27,8 phút.

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic alopurinol và tạp A không nhỏ hơn 3.

Tiến hành sắc ký với dung dịch (1) và dung dịch (2), ghi sắc ký đồ trong khoảng thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của pic alopurinol. Trên sắc ký đồ của dung dịch (1): Diện tích của pic bất kỳ nào tương ứng với pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch (3) (0,2 %); diện tích của 2 pic bất kỳ nào tương ứng với 2 pic tạp chất B và tạp chất C không được lớn hơn diện tích của 2 pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch 3 (0,2 %); diện tích của pic bất kỳ nào tương ứng với pic tạp chất D hay pic tạp chất E không được lớn hơn diện tích của các pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch (3) (0,1 %); diện tích của pic phụ bất kỳ nào khác không được lớn hơn diện tích của pic alopurinol trên sắc ký đồ của dung dịch (2) (0,1 %) và tổng diện tích các pic phụ này không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic alopurinol trên sắc ký đồ dung dịch (2) (0,3 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần so với diện tích pic alopurinol trên sắc ký đồ dung dịch (2).

Định lượng

Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g alopurinol cho vào bình định mức 250 ml, thêm vào 20 ml dung dịch natri hydroxyd 0,05 M (TT), lắc trong 20 phút, thêm 80 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT), lắc trong 10 phút, thêm dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) đến định mức, lắc đều, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 250,0 ml bằng dung dịch

acid hydrochloric 0,1 M (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 250 nm, dùng dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng của alopurinol, C₅H₄N₄O, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 563 làm giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 250 nm.

Bảo quản

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

Loại thuốc

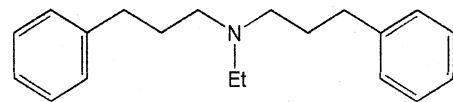
Dự phòng gút và tăng acid uric máu.

Hàm lượng thường dùng

50 mg, 100 mg, 300 mg.

ALVERIN CITRAT

Alverini citratum



C₂₀H₂₇N.C₆H₈O₇

P.t.l: 473,6

Alverin citrat là ethylbis(3-phenylpropyl)amin citrat, phải chứa từ 99,0 % đến 102,0 % C₂₀H₂₇N.C₆H₈O₇, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng, chảy ở nhiệt độ khoảng 104 °C. Khó tan trong nước và ether, hơi tan trong ethanol.

Định tính

Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của alverin citrat chuẩn.

pH

Dung dịch chế phẩm 0,5 % phải có pH từ 3,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch natri lauryl sulfat 0,01 M trong hỗn hợp acetonitril - nước (55 : 45), điều chỉnh pH đến 3,0 bằng acid phosphoric (TT).

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm 0,6 % trong methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch chuẩn tạp alverin citrat.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng methanol (TT). Pha loãng tiếp 1,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml bằng methanol (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,15 m × 4,6 mm) được nhồi base-deactivated end-capped octadecylsilyl silicagel

dành cho sắc ký (5 μ m) (cột Hypersil BDS C18 là thích hợp).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) phù hợp với sắc ký đồ đối chiếu của dung dịch chuẩn tạp alverin citrat. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: các pic tương ứng với các pic tạp chất A, C và D không được có diện tích lớn hơn diện tích của các pic tương ứng trong dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %; 0,5 % và 0,5 %), diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác, trừ các pic phụ trên, không được lớn hơn diện tích của pic chính trong dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 1-Chloro-3-phenylpropan.

Tạp chất C: *N*-ethyl-*N*-(3-phenylpropyl)amin.

Tạp chất D: *N*-ethyl-*N*-(3-phenylpropyl)-*N*-(3-cyclohexylpropyl)amin.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 80 °C; 2 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,375 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 M* (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 M* (CĐ) tương đương với 47,36 mg $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$.

Bảo quản

Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

NANG ALVERIN

Capsulae Alverini

Là viên nang cứng chứa alverin citrat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng alverin citrat, $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nang cứng, màu đồng nhất, không méo mó, bột thuốc chứa trong nang khô rời màu trắng.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi triển khai: *Cloroform - methanol* (90 : 10).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột thuốc đã nghiền mịn có chứa khoảng 100 mg alverin citrat trong 10 ml *methanol* (TT), lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch alverin citrat chuẩn 1 % trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí, kích thước và màu sắc phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Trong phép thử định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng thời gian lưu với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: *Dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động và điều kiện sắc ký được thực hiện giống như trong mục Định lượng.

Dung dịch thử: Lấy khoảng 20 ml dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ một phần dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc này (nếu cần) với *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT) để tạo thành dung dịch có nồng độ khoảng 0,006 % alverin citrat.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch alverin citrat chuẩn 0,006 % trong *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT).

Tính toán lượng alverin citrat, $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$, trong môi trường hòa tan dựa theo diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$ trong alverin citrat chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng alverin citrat, $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch natri lauryl sulfat 0,01 M trong hỗn hợp *acetonitril - nước* (55 : 45), điều chỉnh pH đến 3 bằng *acid phosphoric* (TT).

Dung dịch thử: Cân thuốc trong 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn, trộn đều. Cân một lượng bột viên tương ứng với 0,300 g alverin citrat vào bình định

mức 250 ml, thêm 100 ml *methanol* (TT), lắc siêu âm 1 giờ và thêm *methanol* (TT) đến định mức. Lắc kỹ trong 10 phút và lọc (giấy lọc Cellulose nitrat 0,45 μ m là thích hợp). Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thu được thành 20,0 ml với *nước*.

Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch alverin citrat chuẩn 0,12 % trong *methanol* (TT). Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml với *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Thử nghiệm chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic alverin citrat trong 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %.

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

Tính toán hàm lượng $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$ trong nang dựa theo diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$ trong alverin citrat chuẩn.

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín, bảo quản nơi thoáng mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

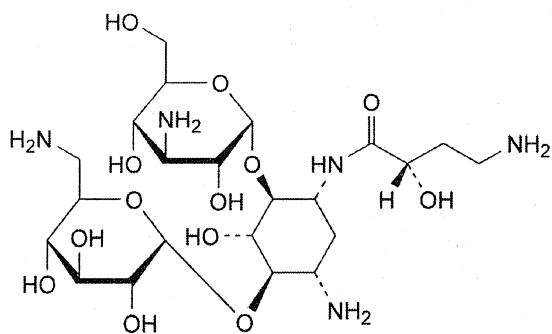
Chống co thắt cơ trơn.

Hàm lượng thường dùng

40 mg, 60 mg.

AMIKACIN

Amikacinum



$C_{22}H_{43}N_5O_{13}$

P.t.l: 585,6

Amikacin là 6-O-(3-amino-3-deoxy- α -D-glucopyranosyl)-4-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glucopyranosyl)-1-N-

[(2S)-4-amino-2-hydroxybutanoyl]-2-deoxy-D-streptomycin, chất kháng khuẩn điều chế từ kanamycin A, phải chứa từ 96,5 % đến 102,5 % $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$ tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng. Hơi tan trong nước, khó tan trong *methanol*, thực tế không tan trong acetone và ethanol 96 %.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của amikacin chuẩn.

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel.

Dung môi khai triển: Lấy lớp dưới sau khi lắc kỹ và để yên cho tách lớp của hỗn hợp đồng thể tích của amoniac đặc (TT), *methanol* (TT) và methylen clorid (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg amikacin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg kanamycin monosulfat chuẩn trong 1 ml dung dịch thử, pha loãng thành 10 ml bằng *nước*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun *dung dịch ninhydrin* (TT), sấy ở 110 $^{\circ}$ C trong 5 phút. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách ra rõ ràng.

pH

Từ 9,5 đến 11,5 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong vừa đủ 10 ml *nước không có carbon dioxyd* (TT), đem đo pH.

Góc quay cực riêng

Từ +97 $^{\circ}$ đến +105 $^{\circ}$, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3) giống như phần Định lượng.

Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ không được dưới 50 % của thang đo.

Tiêm dung dịch phân giải, phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng của amikacin và tạp chất A trên sắc ký đồ ít nhất phải bằng 3,5.

Tiêm dung dịch thử (1), tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic amikacin. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), diện tích của pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1 %). Diện tích của bất kỳ pic phụ khác không được lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Tổng diện tích các pic phụ (kể cả pic của tạp chất A) không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (1,5 %). Bỏ qua các pic tương ứng với pic của dung dịch mẫu trắng và các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Nước

Không được quá 8,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,20 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,27 % đã được chỉnh pH đến 6,5 bằng dung dịch kali hydroxyd 2,2 % - methanol (30 : 70).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong nước, pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Lấy 0,2 ml dung dịch thu được, cho vào một lọ có nút thủy tinh mài đã có sẵn 2,0 ml *dung dịch acid 2,4,6-trinitrobenzen sulphonic 1 %*. Thêm 3,0 ml *pyridin (TT)*, đậy nút thật chặt. Lắc mạnh trong 30 giây, sau đó đun nóng trong cách thủy ở 75 °C trong 45 phút. Làm lạnh trong nước lạnh trong 2 phút và thêm 2 ml *acid acetic băng (TT)*, lắc mạnh trong 30 giây.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Tiến hành xử lý giống như dung dịch thử (1), bắt đầu từ “Lấy 0,2 ml dung dịch thu được”.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg tạp chất A chuẩn của amikacin trong nước và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước. Tiến hành xử lý giống như dung dịch thử (1), bắt đầu từ “Lấy 0,2 ml dung dịch thu được”.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50,0 mg amikacin chuẩn trong nước và pha loãng thành 50,0 ml với nước. Tiến hành xử lý giống như dung dịch thử (1), bắt đầu từ “Lấy 0,2 ml dung dịch thu được”.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg amikacin chuẩn và 5 mg tạp chất A chuẩn của amikacin trong nước, pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Tiến hành xử lý giống như dung dịch thử (1), bắt đầu từ “Lấy 0,2 ml dung dịch thu được”.

Dung dịch mẫu trắng: Tiến hành giống như dung dịch thử (1), dùng 0,2 ml nước.

Duy trì nhiệt độ của các dung dịch ở 10 °C.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là octadecylsilyl silica gel (5 μm). Nhiệt độ cột được duy trì ở 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 340 nm.

Tốc độ dòng 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao pic chính không được dưới 50 % của thang đo. Tiêm lặp lại sáu lần dung dịch đối chiếu (2), phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic amikacin phải nhỏ hơn 2,0 %.

Tiêm dung dịch thử (2). Tính hàm lượng của $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$ từ diện tích pic của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2).

Bảo quản

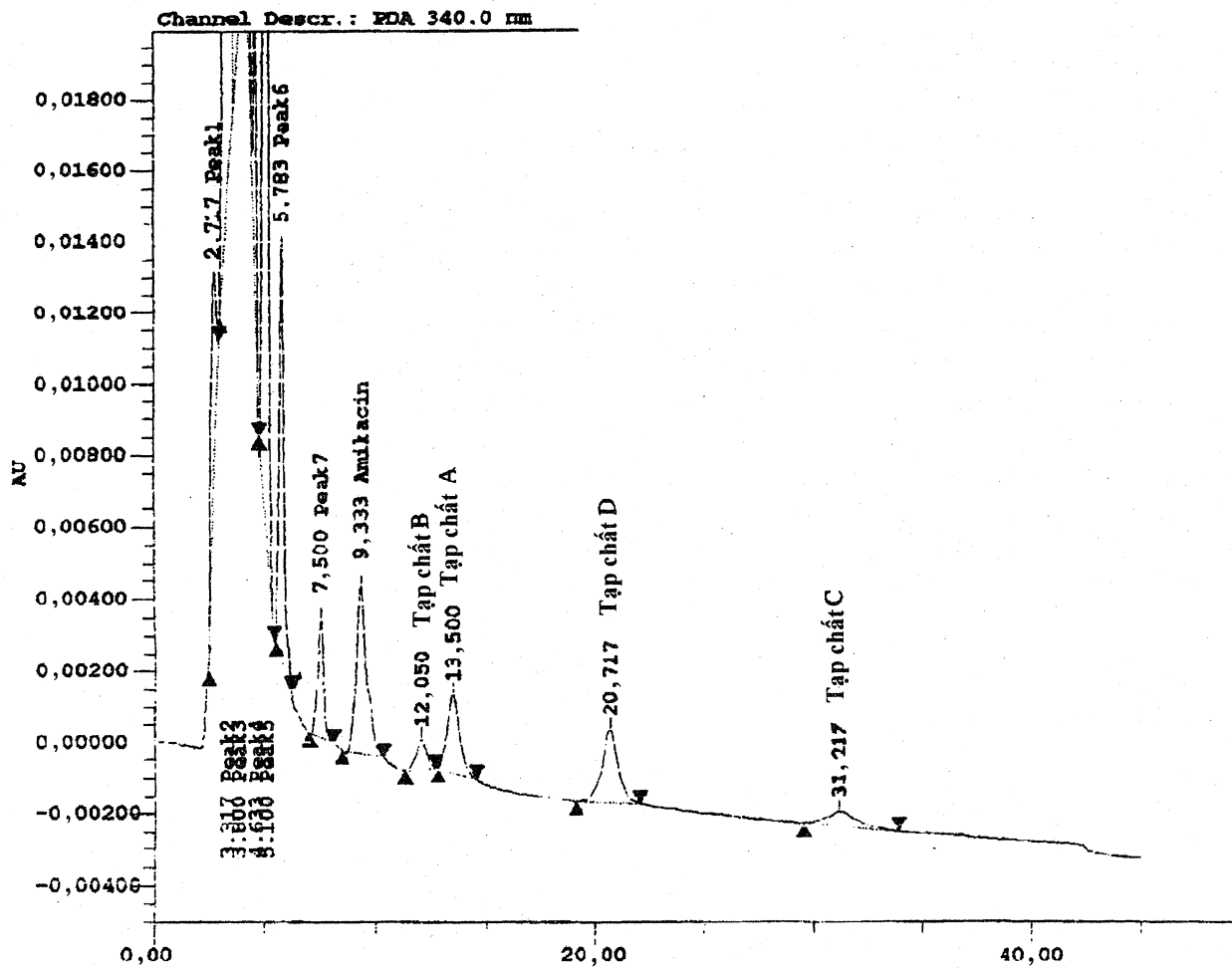
Dựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Thuốc bột tiêm.



Sắc ký đồ thử tạp chất liên quan

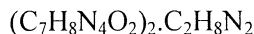
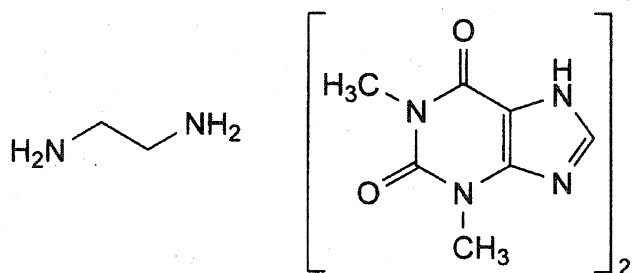
Ghi chú:

Tạp chất A: 4-O-(3-amino-3-deoxy- α -D-glucopyranosyl)-6-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glucopyranosyl)-1-N-[(2S)-4-amino-2-hydroxybutanoyl]-2-deoxy-L-streptamin.

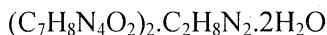
Tạp chất B: 4-O-(3-amino-3-deoxy- α -D-glucopyranosyl)-6-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glucopyranosyl)-1,3-N-bis[(2S)-4-amino-2-hydroxybutanoyl]-2-deoxy-L-streptamin.

Tạp chất C: 4-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glucopyranosyl)-6-O-[3-[[[(2S)-4-amino-2-hydroxybutanoyl]-amino]-3-deoxy- α -D-glucopyranosyl]-2-deoxy-D-streptamin.

Tạp chất D: Kanamycin.

AMINOPHYLIN*Aminophyllinum***Theophyllin ethylendiamin**

P.t.l: 420,4 (Aminophyllin khan)



P.t.l: 456,6 (Aminophyllin dihydrat)

Aminophyllin là hỗn hợp ổn định của theophyllin và ethylendiamin. Chế phẩm có thể khan hoặc ngậm không nhiều hơn hai phân tử nước, phải chứa từ 84,0 % đến 87,4 % $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$ và từ 13,5 % đến 15,0 % $\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột trắng hay hơi vàng, hoặc hạt nhỏ, thoảng mùi amoniac, vị đắng. Dưới tác dụng của không khí ẩm, ánh sáng, nhiệt độ cao, aminophyllin bị biến màu. Để ngoài không khí aminophyllin từ từ bị mất ethylendiamin, đồng thời hấp thu carbon dioxyd, giải phóng theophyllin tự do. Ở nơi thiếu ánh sáng, nó bị phân hủy từ từ khi tiếp xúc với không khí ẩm. Sự phân hủy xảy ra nhanh hơn ở nhiệt độ cao.

Đễ tan trong nước (dung dịch có thể trở nên đục khi hấp thu carbon dioxyd), thực tế không tan trong ethanol và ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C, E.

Nhóm II: A, C, D, E, F.

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml nước, thêm từng giọt 2 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT) và lắc, lọc. Tủa dùng để làm định tính A, B, D và F. Dịch lọc dùng để làm định tính C.

A. Tủa được rửa bằng nước và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C, có điểm chảy từ 270 °C đến 274 °C (Phụ lục 6.7).

B. Phở hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa đã được rửa bằng nước và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C phải phù hợp với phở hồng ngoại đối chiếu của theophyllin hoặc phở hồng ngoại của theophyllin chuẩn.

C. Thêm 0,2 ml benzoyl clorid (TT) vào dịch lọc. Kiểm hóa bằng dung dịch natri hydroxyd loãng (TT) và lắc kỹ. Lọc lấy tủa, rửa bằng 10 ml nước, hòa tan trong 5 ml ethanol 96 % (TT) nóng rồi thêm 5 ml nước. Tủa tạo

thành, sau khi được rửa và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C, có điểm chảy từ 248 °C đến 252 °C (Phụ lục 6.7).

D. Đun nóng khoảng 10 mg tủa với 1,0 ml dung dịch kali hydroxyd 36 % trong cách thủy ở 90 °C trong 3 phút. Thêm 1,0 ml dung dịch acid sulfanilic đã được diazo hóa (TT), màu đỏ sẽ từ từ xuất hiện. Song song tiến hành một mẫu trắng.

E. Phải đáp ứng phép thử Nước (Phụ lục 10.3).

F. Tủa cho phản ứng của nhóm xanthin (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml nước không có carbon dioxyd (TT) bằng cách đun nóng. Dung dịch không được đục hơn hỗn dịch chuẩn đối chiếu số II (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn mẫu VL₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,5 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - aceton - cloroform - butanol (10 : 30 : 30 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 2 ml nước bằng cách đun nóng và pha loãng thành 10,0 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai bản mỏng tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí, và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử ngoài vết chính bất kỳ vết phụ nào xuất hiện đều không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu.

Kiểm loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 1,5 % (đối với dạng khan) (Phụ lục 10.3), xác định trên 2,000 g chế phẩm hòa tan trong 20 ml pyridin khan (TT).

Từ 3,0 đến 8,0 % (đối với dạng ngậm nước) (Phụ lục 10.3), xác định trên 0,500 g chế phẩm hòa tan trong 20 ml pyridin khan (TT).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Ethylendiamin: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 30 ml nước, thêm 0,1 ml dung dịch lục bromocresol (TT).

Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (CĐ)* cho tới khi xuất hiện màu xanh lục.

1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (CĐ)* tương đương với 3,005 mg $C_2H_8N_2$.

Theophylin: Sấy khoảng 0,200 g chế phẩm ở 135 °C đến khối lượng không đổi. Hòa tan cần trong 100 ml *nước* bằng cách đun nóng, để nguội, thêm 20 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N* và lắc. Thêm 1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* cho tới khi có màu xanh lơ.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* tương đương với 18,02 mg $C_7H_8N_4O_2$.

Bảo quản

Trong chai lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Giãn khí - phế quản, giãn cơ trơn mạch máu, lợi tiểu. Trị hen suyễn.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén.

THUỐC TIÊM AMINOPHYLIN

Injectio Aminophyllini

Thuốc tiêm aminophylin là *dung dịch vô khuẩn* chứa aminophylin hoặc aminophylin hydrat trong nước để pha thuốc tiêm không có carbon dioxyd.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ethylendiamin, $C_2H_8N_2$, không quá 0,295 g đối với mỗi gam theophylin khan, $C_7H_8N_4O_2$, được xác định ở phần định lượng theophylin.

Hàm lượng theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, từ 73,25 % đến 88,25 % so với lượng ghi trên nhãn của aminophylin.

Tính chất

Dung dịch trong.

Định tính

A. Lấy một thể tích chế phẩm chứa khoảng 0,1 g aminophylin, thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, lắc đều, để yên vài phút, lọc. Rửa rửa với lượng nhỏ nước lạnh và sấy khô ở 105 °C. Phổ hồng ngoại của rửa phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của theophylin hoặc phổ hồng ngoại của theophylin chuẩn (Phụ lục 4.2).

B. Lấy một thể tích chế phẩm chứa khoảng 0,1 g aminophylin, thêm 2 ml *dung dịch đồng sulfat 1 %*, lắc. Màu xanh tím xuất hiện.

C. Bay hơi một lượng thể tích chế phẩm chứa khoảng 60 mg aminophylin đến khô trên đĩa sứ, thêm 1 ml *acid hydrocloric (TT)* và 0,1 g *kali clorat (TT)*, bay hơi đến khô. Cần xuất hiện màu đỏ nhạt, khi đưa vào

hơi amoniac của *dung dịch amoniac 5 M (TT)* cần chuyển sang màu tím.

pH

Từ 8,8 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Theophylin: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với 0,1 g aminophylin vào bình định mức 250 ml, thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* đến vạch. Lấy chính xác 5 ml *dung dịch thu được* vào bình định mức 250 ml, thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* đến vạch. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 275 nm (Phụ lục 4.1), dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 650 là giá trị của A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 275 nm.

Ethylendiamin: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng 0,5 g aminophylin vào bình nón 100 ml, thêm *nước* nếu cần để được 20 ml, thêm 0,1 ml *dung dịch lục bromocresol (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (CĐ)* cho đến khi màu xanh dương chuyển sang xanh lục.

1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (CĐ)* tương đương với 3,005 mg $C_2H_8N_2$.

Tính lượng ethylendiamin, $C_2H_8N_2$, có trong mỗi gam theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, được tìm thấy ở phần định lượng theophylin.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Thuốc trị hen suyễn.

Hàm lượng thường dùng

0,240 g/10 ml.

VIÊN NÉN AMINOPHYLIN

Tabellae Aminophyllini

Là viên nén chứa aminophylin.

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

Hàm lượng của theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, từ 80,6 % đến 90,8 % so với lượng ghi trên nhãn của aminophylin.

Hàm lượng của ethylendiamin, $C_2H_8N_2$, không ít hơn 10,9 % so với lượng ghi trên nhãn của aminophylin.

Tính chất

Viên nén màu trắng hoặc vàng nhạt.

Định tính

Lấy một lượng bột viên tương ứng với 0,5 g aminophylin, thêm 20 ml *nước*, lắc, lọc, thêm từng giọt 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* vào dịch

lọc, lắng. Để yên vài phút, lọc, rửa dùng làm định tính mục A, B và dịch lọc làm định tính mục C.

A. Tủa được rửa bằng nước và sấy khô ở 105 °C. Tủa có điểm chảy khoảng 271 °C (Phụ lục 6.7).

B. Phở hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa đã được rửa bằng nước và sấy khô ở 105 °C phải phù hợp với phở hồng ngoại đối chiếu của theophylin hoặc phở hồng ngoại của theophylin chuẩn.

C. Thêm 2,0 ml *benzoyl clorid* (TT) vào dịch lọc. Kiểm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd* 5 M (TT), lắc kỹ, lọc lấy tủa và rửa bằng *nước*. Kết tinh lại bằng hỗn hợp *nước* - *methanol* 96 % (1 : 3), rửa và sấy khô ở 100 °C. Tinh thể có điểm chảy khoảng 250 °C (Phụ lục 6.7)

D. Hòa tan lượng bột viên tương ứng khoảng 0,25 g aminophyllin với 5 ml nước, lọc. Thêm 2 ml dung dịch đồng sulfat 1 % (TT) vào 2 ml dung dịch lọc, lắc. Màu xanh tím xuất hiện.

Độ hòa tan của theophylin (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml đệm phosphat chuẩn pH 7,0 (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Thực hiện bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha đông: Methanol - nước (45 : 55).

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 10 ml dịch lọc pha loãng bằng *đệm phosphat chuẩn pH 7,0 (TT)* (nếu cần) để có nồng độ tương ứng với nồng độ của dung dịch chuẩn.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg theophylin chuẩn vào bình định mức 100 ml, hòa tan và pha loãng bằng đệm *phosphat chuẩn pH 7,0 (TT)* đến vạch. Hút 1,0 ml dung dịch này vào bình định mức 50 ml, pha loãng bằng đệm *phosphat chuẩn pH 7,0 (TT)* đến vừa đủ.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 cm), được nhồi silica đã được gắn với nhóm phenyl (Cột Apex phenyl là thích hợp) (5 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 273 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

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

Tính lượng theophyllin, $C_7H_8N_4O_2$, được hòa tan trong mỗi viên dựa vào hàm lượng của theophyllin trong chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng theophyllin, $C_7H_8N_4O_2$, được quy ra từ lượng aminophyllin ghi trên nhãn, được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Theophyllin: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 80 mg aminophyllin vào bình định mức 200 ml, thêm hỗn hợp 20 ml *natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và 60 ml *nước*, lắc 10 phút, pha loãng bằng *nước* vừa đủ đến vạch, lắc, lọc, bỏ 20 ml dung dịch đầu. Lấy 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 250 ml, pha loãng bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 275 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng theophyllin, $C_7H_8N_4O_2$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 650 là giá trị của A (1 %, 1 cm) của theophyllin ở cực đại 275 nm.

Ethylendiamin: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,3 g aminophyllin vào bình nón 100 ml, thêm 20 ml nước, lắc, đun nóng ở 50 °C trong 30 phút, thêm 0,1 ml dung dịch bromocresol lục (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid sulfuric 0,05 M (CĐ) cho đến khi xuất hiện màu xanh lục.

1 ml dung dịch acid sulfuric 0,05 M (CĐ) tương đương với 3,005 mg $C_2H_8N_2$.

Bảo quản

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

Loại thuốc

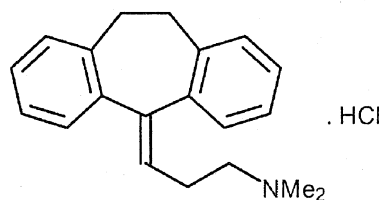
Thuốc trị hen suyễn.

Hàm lượng thường dùng

100 mg.

AMITRIPTYLIN HYDROCLORID

Amitriptylini hydrochloridum


$$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{ClN}$$

P.t.l: 313,9

Amitriptylin hydroclorid là 3-(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d][7]annulen-5-yliden)-N,N-dimethylpropan-1-amin hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{20}H_{24}ClN$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu hoặc bột trắng hay gần như trắng. Dễ tan trong nước, trong ethanol 96 % và trong dicloromethan.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của amitriptylin hydroclorid chuẩn.

B. Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với *methanol* (TT). Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm, dung dịch phải có một cực đại hấp thụ ở 239 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại phải từ 435 đến 475.

C. Điểm chảy: Từ 195 °C đến 199 °C (Phụ lục 6.7).

D. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid sulfuric loãng* (TT). Thêm 2 ml *dung dịch kali permanganat* (TT) bão hòa. Màu tím của dung dịch sẽ biến mất nhanh. Đun nóng trên cách thủy cho tới khi tủa màu nâu được hòa tan gần hết. Làm nguội, lắc với 15 ml *ether* (TT) để loại bỏ phần tủa đục màu trắng và bỏ đi lớp ether. Thêm 5 ml *amoniac đậm đặc* (TT) vào lớp nước và lắc 2 phút. Thêm 3 ml *dicloromethan* (TT) và lắc tiếp. Màu đỏ tím sẽ xuất hiện ở lớp dung môi phía dưới.

E. 50 mg chế phẩm phải cho phản ứng (B) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25 ml bằng cùng dung môi. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu N₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyl* (TT) và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi. Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl* (TT) và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M* (CĐ). Dung dịch phải có màu vàng. Thêm 0,4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (CĐ). Dung dịch chuyển sang màu đỏ.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Chuẩn bị các dung dịch trong ánh sáng dịu và triển khai sắc ký trong điều kiện tránh ánh sáng.

Dung môi khai triển: Diethylamin - ethyl acetat - cyclohexan (3 : 15 : 85).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg dibenzosuberon chuẩn trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 100 ml bằng *ethanol* 96 % (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg cyclobenzaprin hydroclorid chuẩn trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch này thành 50 ml bằng *ethanol* 96 % (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình không bão hòa dung môi tới khi dung môi đi được 14 cm. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 10 phút và phun lên bản mỏng một hỗn hợp vừa mới pha gồm 4 thể tích *dung dịch formaldehyd* (TT) và 96 thể tích *acid sulfuric* (TT). Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 10 phút và quan sát ngay dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm và 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: bất kỳ vết sắc ký nào tương ứng với dibenzosuberon và cyclobenzaprin hydroclorid theo thứ tự không được đậm hơn vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %) và dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %); bất kỳ vết nào ngoài vết chính và các vết tương ứng với dibenzosuberon và cyclobenzaprin hydroclorid, không được đậm hơn vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 6.

Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C, 2 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 30 ml *ethanol* 96% (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (CĐ) tương đương với 31,39 mg C₂₀H₂₄ClN.

Bảo quản

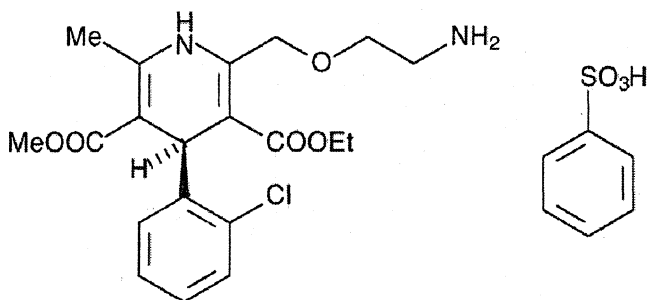
Bảo quản tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống trầm cảm.

Chế phẩm

Viên nén.

AMLODIPIN BESILAT**Amlodipini besilas**

và đồng phân đối quang

$C_{20}H_{25}ClN_2O_5 \cdot C_6H_6O_3S$

P.t.l: 567,1

Amlodipin besilat là 3-ethyl 5-methyl (4*RS*)-2-[(2-aminoethoxy)methyl]-4-(2-clorophenyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat benzensulphonat, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{20}H_{25}ClN_2O_5 \cdot C_6H_6O_3S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng.

Đễ tan trong methanol, hơi tan trong ethanol, khó tan trong nước và 2-propanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của amlodipin besilat chuẩn.

Chuẩn bị mẫu đo bằng phương pháp tạo bột nhão.

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4) trong phép thử A cho tạp chất liên quan. Trên sắc ký đồ dung dịch thử (2) phải cho vết chính tương ứng về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính của dung dịch đối chiếu (2) khi quan sát dưới đèn tử ngoại ở 366 nm.

C. Hòa tan 5 mg chế phẩm trong vừa đủ 100 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 N trong methanol (TT). Phổ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được trong khoảng từ 300 nm đến 400 nm (Phụ lục 4.1) có một cực đại tại bước sóng 360 nm. Độ hấp thụ riêng tại bước sóng cực đại từ 113 đến 121.

Góc quay cực riêng

Từ $-0,10^\circ$ đến $+0,10^\circ$ (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel F₂₅₄.

Hệ dung môi: Lóp trên của hỗn hợp acid acetic băng - nước - methyl isobutyl ceton (25 : 25 : 50).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,140 g chế phẩm trong 2,0 ml methanol (TT).

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10,0 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 70,0 mg amlodipin besilat chuẩn trong 1,0 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 0,5 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 5 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 3,0 ml dung dịch thử (2) thành 100,0 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 100,0 ml bằng methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy khô bản mỏng ở 80 °C trong 15 phút. Kiểm tra dưới đèn tử ngoại 254 nm và 366 nm. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) phải cho hai vết nhỏ tách ra rõ ràng có giá trị R_f khoảng 0,18 và 0,22.

Trên sắc ký đồ dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %) và không quá hai vết phụ có màu đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,1 %).

B. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp gồm 15 thể tích acetonitril (TT), 35 thể tích methanol (TT) và 50 thể tích dung dịch chứa 7,0 ml triethylamin (TT) trong 1000 ml nước và đã được chỉnh pH đến $3,0 \pm 0,1$ bằng acid phosphoric (TT).

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

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 3,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Hút chính xác 5,0 ml dung dịch thu được pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg chế phẩm trong 5 ml dung dịch hydrogen peroxyl 100 tt (TT). Đun nóng dung dịch ở 70 °C trong 45 phút.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, dung dịch đối chiếu và dung dịch thử với thời gian rửa giải của dung dịch thử gấp ba lần thời gian lưu của amlodipin besilat.

Thời gian lưu tương đối của tạp chất D so với amlodipin (thời gian lưu khoảng 7 phút) bằng khoảng 0,5. Điều chỉnh pha động nếu cần thiết.

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic của tạp chất D và amlodipin ít nhất phải bằng 4,5.

Hệ số hiệu chỉnh khi tính hàm lượng tạp chất D là 2 (nhân diện tích của pic tương ứng với tạp chất D với 2). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với tạp chất D không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (0,3 %).

Tổng diện tích các pic phụ khác không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (0,3 %). Loại bỏ pic tương ứng với benzen sulfonat (thời gian lưu tương đối khoảng 0,2).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (0,03 %).

Ghi chú: Tạp chất D: 3-ethyl 5-methyl 2-[(2-aminoethoxy)methyl]-4-(2-clorophenyl)-6-methyl pyridin -3,5-dicarboxylat.

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 3,000 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký giống như phần thử tạp chất liên quan.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động, pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Hút chính xác 5,0 ml dung dịch thu được, pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 50,0 mg amlodipin besilat chuẩn trong pha động, pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Hút chính xác 5,0 ml dung dịch thu được, pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu. Tính hàm lượng của $C_{20}H_{25}ClN_2O_5 \cdot C_6H_6O_3S$ dựa vào diện tích pic đáp ứng của dung dịch thử và dung dịch chuẩn và hàm lượng được công bố của $C_{20}H_{25}ClN_2O_5 \cdot C_6H_6O_3S$ trong amlodipin besilat chuẩn.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Ức chế dòng calci.

Chế phẩm

Thuốc nang.

AMONI CLORID

Amonii chloridum

NH_4Cl

P.t.l: 53,49

Amoni clorid phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % NH_4Cl , tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể không màu, dễ tan trong nước.

Định tính

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

B. 10 ml dung dịch S (xem phép thử ở dưới) cho phản ứng của muối amoni (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

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

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,05 ml dung dịch đỏ methyl (TT). Để chuyển màu dung dịch, không được dùng quá 0,5 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CD) hoặc dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CD).

Bromid và iodid

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT) và 0,05 ml dung dịch cloramin T 2 % (TT). Sau 1 phút, thêm 2 ml cloroform (TT) và lắc mạnh. Lớp cloroform phải không màu.

Sulfat

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

Lấy 10 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Calci

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.3).

Lấy 5 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Kim loại nặng

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

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

Sắt

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 5 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 10 ml và tiến hành thử.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 2 h)

Tro sulfat

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

Dùng 2,0 g chế phẩm để thử.

Định lượng

Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong 20 ml nước. Thêm một hỗn hợp gồm 5 ml formaldehyd (TT) đã được trung tính

hóa trước theo chỉ thị là *dung dịch phenolphthalein (TT)* và 20 ml *nước*. Sau 1 - 2 phút, chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)*. Dùng 0,2 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* tương đương với 53,49 mg NH_4Cl .

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín.

Loại thuốc

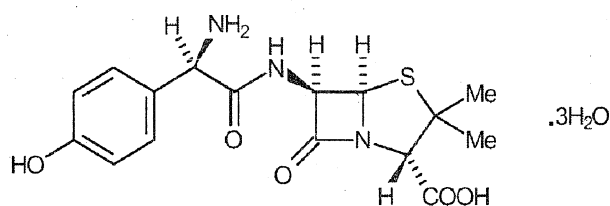
Dùng để acid hóa nước tiểu và điều trị nhiễm kiềm chuyển hóa.

Chế phẩm

Dung dịch uống.

AMOXICILIN TRIHYDRAT

Amoxicillinum trihydricum



$\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

P.t.l: 419,4

Amoxicilin trihydrat là acid (6R)-6-(α -D-4-hydroxy-phenylglycylamino) penicilanic trihydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.

Khó tan trong nước và trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong cloroform, ether và các dầu béo. Tan trong các dung dịch acid loãng và dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A

Nhóm II: B, C

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của amoxicilin trihydrat chuẩn.

B. Tiến hành sắc ký lớp mỏng theo định tính các penicilin (Phụ lục 8.2). Dùng pha động B.

C. Phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).

Độ trong của dung dịch

Hòa tan riêng biệt 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)* và 1,0 g chế phẩm

trong 10 ml *dung dịch amoniac 2 M (TT)*. Quan sát ngay sau khi hòa tan, cả hai dung dịch trên không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2).

pH

Từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Xác định trên dung dịch chế phẩm 0,2 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)*, được hòa tan bằng cách lắc siêu âm hoặc đun nóng nhẹ.

Góc quay cực riêng

Từ $+290^\circ$ đến $+315^\circ$, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 5.13).

Xác định trên dung dịch chế phẩm 0,2 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Điều chỉnh tỉ lệ pha động A:B và tiến hành như đã mô tả trong phần định lượng. Tiêm dung dịch chuẩn (4). Tiêm dung dịch thử (2) vừa mới pha và bắt đầu chương trình sắc ký đẳng dòng với pha động đã được chọn. Ngay sau khi pic amoxicilin được rửa giải, bắt đầu chương trình gradient để đạt tới tỉ lệ pha động A : B (0 : 100) trong thời gian 25 phút. Tiếp tục chương trình sắc ký với pha động B trong khoảng 15 phút, sau đó cân bằng cột khoảng 15 phút với pha động ban đầu đã được chọn. Tiêm pha động A và sử dụng cùng chương trình gradient để thu được mẫu trắng. Trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2), diện tích của bất kỳ pic nào khác với pic chính và khác với bất kỳ pic nào thu được trong sắc ký đồ của mẫu trắng không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn (4) (1 %).

N,N-dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nước

11,5 % đến 14,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,100 g chế phẩm.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động:

Pha động A: Hỗn hợp gồm 1 thể tích *acetonitril (TT)* và 99 thể tích *dung dịch đệm phosphat pH 5,0* [Hút 250 ml *dung dịch kali dihydrogen phosphat 0,2 M (TT)*, thêm *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* đến pH 5,0 và pha loãng với *nước* thành 1000,0 ml].

Pha động B: Hỗn hợp *acetonitril* - *dung dịch đệm phosphat pH 5,0* (20 : 80).

Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan 30,0 mg amoxicilin trihydrat chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng pha động.

Dung dịch chuẩn (2): Hòa tan 4,0 mg cefadroxil chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng pha động. Hút 5,0 ml dung dịch này, thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn (1) và pha loãng thành 100 ml với pha động A.

Dung dịch chuẩn (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch chuẩn (1) thành 20,0 ml với pha động A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml với pha động A.

Dung dịch chuẩn (4): Pha loãng 2,0 ml dung dịch chuẩn (1) thành 20,0 ml với pha động A. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml với pha động A.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng pha động.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 20,0 ml với cùng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 μm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml /min.

Thể tích tiêm: 50 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống: Cân bằng cột bằng hỗn hợp pha động gồm pha động A : pha động B (92 : 8). Tiêm dung dịch chuẩn (2), độ phân giải giữa 2 pic chính không được nhỏ hơn 2,0; nếu cần, có thể điều chỉnh tỉ lệ pha động A : B. Hệ số phân bố khối đối với pic thứ nhất (amoxicilin) phải từ 1,3 đến 2,5. Tiêm dung dịch chuẩn (3), điều chỉnh hệ thống để thu được pic có tỉ số tín hiệu trên nhiễu (S/N) không được nhỏ hơn 3,0. Tiêm riêng biệt 6 lần dung dịch chuẩn (1), độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic chính từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 1,0 %.

Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn (1) và dung dịch thử (1). Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn và dựa vào hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ của amoxicilin trihydrat chuẩn, tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, có trong chế phẩm.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín, để ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Nhãn

Phải qui định rõ thời hạn sử dụng và điều kiện bảo quản.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nén, nang cứng, dịch treo uống.

NANG AMOXICILIN

Capsulae Amoxicillini

Là nang cứng có chứa amoxicilin trihydrat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nang” (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng, bột thuốc trong nang màu trắng ngà, không mùi hay gần như không mùi.

Định tính

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

Bản mỏng, dung môi khai triển, dung dịch đối chiếu, cách tiến hành thực hiện như Viên nén amoxicilin

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng 100 mg amoxicilin trong 20 ml hỗn hợp gồm acetone - dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (4 : 1), lọc.

B. Thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử trong phân định lượng phải tương ứng với thời gian lưu của pic amoxicilin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước

Không được quá 14,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng khoảng 0,100 g bột thuốc.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 60 min.

Cách tiến hành: Lấy một lượng dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu, pha loãng nếu cần. Đo độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 272 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là nước. So sánh với dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn trong nước có nồng độ tương đương. Tính hàm lượng của amoxicilin.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Dung dịch A, pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký, cách tiến hành thực hiện như Viên nén amoxicilin.

Dung dịch thử: Cân thuốc trong từng nang của 20 nang, tính khối lượng trung bình, trộn đều, rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng khoảng 0,200 g amoxicilin, pha trong dung dịch A vừa đủ 200,0 ml, lắc siêu âm để hòa tan và lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc không quá 1 μm (chỉ dùng trong vòng 6 giờ).

Bảo quản

Để ở nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm beta lactam.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg, tính theo amoxicilin khan.

VIÊN NÉN AMOXICILIN**Tabellae Amoxicillini**

Là viên nén chứa amoxicilin trihydrat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng hay trắng ngà, gần như không mùi.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Aceton - nước - toluen - acid acetic băng (65 : 10 : 10 : 2,5)

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng 100 mg amoxicilin trong 20 ml hỗn hợp gồm aceton - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (4 : 1), lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong hỗn hợp gồm aceton - dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (4 : 1) để được dung dịch chứa 0,5 % amoxicilin.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 μ l mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch ninhydrin 0,3 % trong ethanol (TT), rồi sấy ở 90 °C trong 15 phút. Quan sát dưới ánh sáng thường. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải giống nhau về màu sắc và giá trị R_f .

B. Thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử trong phân định lượng phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước

Không được quá 13,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng khoảng 0,15 g bột viên.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 60 min.

Cách tiến hành: Lấy một lượng dung dịch, lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu, pha loãng nếu cần. Đo độ hấp thụ ở bước

sóng cực đại khoảng 272 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là nước. So sánh với dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn trong nước có nồng độ tương đương. Tính hàm lượng của amoxicilin.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 phút.

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch A: Hòa tan 13,6 g kali dihydrophosphat (TT) trong 2000 ml nước, điều chỉnh tới pH $5,0 \pm 0,1$ với dung dịch kali hydroxyd 45 %.

Pha động: Dung dịch A - acetonitril (96 : 4). Điều chỉnh tỷ lệ acetonitril để đạt điều kiện sắc ký yêu cầu (nếu cần).

Dung dịch chuẩn: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong dung dịch A để có nồng độ amoxicilin chính xác khoảng 1,2 mg/ml (chỉ dùng trong vòng 6 giờ).

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột tương ứng khoảng 0,2 g amoxicilin cho vào bình định mức 200 ml, thêm dung dịch A, lắc siêu âm để hòa tan, thêm đến định mức với cùng dung môi, trộn đều và lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc không quá 1 μ m (chỉ dùng trong vòng 6 giờ).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 đến 10 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch chuẩn, tính trên pic chính thu được trên sắc ký đồ: hệ số dung lượng phải nằm trong khoảng 1,1 đến 2,8; số đĩa lý thuyết của cột không nhỏ hơn 1700; hệ số đối xứng không lớn hơn 2,5 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn không lớn hơn 2,0 %.

Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, trong viên từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản

Để ở nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm beta lactam.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg, tính theo amoxicilin khan.

VIÊN NÉN AMOXICILIN VÀ ACID CLAVULANIC***Tabellae Amoxicillini et Acidi clavulanic***

Là viên nén bao phim chứa amoxicilin trihydrat và kali clavulanat.

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

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao phải nhẵn, không nứt cạnh, không dính tay, đồng đều về màu sắc. Bên trong của viên bao có màu trắng.

Định tính

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

Nước (Phụ lục 10.3)

Không được quá 7,5 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin không lớn hơn 250 mg.

Không được quá 10,0 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin lớn hơn 250 mg, nhưng không lớn hơn 500 mg.

Không được quá 11,0 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin lớn hơn 500 mg.

Với viên nén dùng để nhai, không được quá 6,0 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin không lớn hơn 125 mg và không được quá 8,0 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin lớn hơn 125 mg.

Dùng 0,3 g bột viên đã nghiền mịn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 45 min.

Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần). Tiến hành định lượng amoxicilin và acid clavulanic hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, điều kiện sắc ký và dung dịch chuẩn như phần định lượng.

Yêu cầu:

Không ít hơn 70 % lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Không ít hơn 70 % lượng acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp 5 thể tích *methanol* (TT) và 95 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat monohydrat* 0,78 % đã được điều chỉnh đến pH 4,4 bằng *acid phosphoric* (TT).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn 0,05 % (kl/tt) và lithi clavulanat chuẩn 0,02 % trong nước.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên đã loại bỏ lớp bao phim và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,250 g amoxicilin vào bình định mức 500 ml, thêm 400 ml nước và lắc siêu âm 15 phút. Pha loãng bằng nước vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tinh C (5 μm)

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

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic amoxicilin và acid clavulanic không nhỏ hơn 3,5 và hệ số đối xứng của pic acid clavulanic không lớn hơn 1,5.

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

Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, trong dung dịch chuẩn.

1 mg lithi clavulanat, $C_8H_8LiNO_5$, tương ứng với 0,9711 mg acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

Viên nén tương ứng với 500 mg amoxicilin khan và 125 mg acid clavulanic.

BỘT PHA TIÊM AMOXICILIN***Amoxicillini pro injectione***

Bột pha tiêm amoxicilin là bột kết tinh vô khuẩn của amoxicilin natri đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với nước vô khuẩn để tiêm ngay trước khi dùng.

Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, phải đạt từ 90,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc trắng ngà.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại của amoxicilin natri chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % (TT) đã được điều chỉnh đến pH 5,0 với acid acetic băng (TT) (10 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm trong dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT) để được dung dịch có nồng độ amoxicilin 0,25 %.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn 0,25 % trong dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha dung dịch có chứa amoxicilin trihydrat chuẩn và ampicilin trihydrat chuẩn trong dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT) để có nồng độ mỗi chất là 0,25 %.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Cho vào bình chứa hơi iod để phát hiện các vết.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương đương về vị trí, màu sắc, kích thước với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi 2 vết của dung dịch đối chiếu (2) được tách rời rõ ràng.

C. Có phản ứng đặc trưng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm

Pha chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) để được dung dịch chứa 10 % amoxicilin, pH phải từ 8,0 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Nước

Không được quá 4,0 % (Phụ lục 10.3). Dùng 0,3 g bột thuốc.

Nội độc tố vi khuẩn

Hòa tan một lượng chế phẩm trong nước BET (TT) để thu được dung dịch có nồng độ amoxicilin 10 mg/ml

(dung dịch A). Giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 2,5 đơn vị nội độc tố trong 1 ml. Tiến hành thử nghiệm sử dụng giá trị pha loãng cực đại của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat sử dụng trong thử nghiệm (Phụ lục 13.2).

Chất phân hủy

Cân chính xác một lượng chế phẩm tương đương 0,24 g amoxicilin, thêm 25 ml *dung dịch đệm boric pH 9,0* và 0,5 ml *dung dịch anhydrid acetic (TT)*, khuấy trong 3 phút. Thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 4,6* và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch thủy ngân (II) nitrat 0,02 N (CĐ)* bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch thủy ngân (II) nitrat 0,02 N (CĐ)* tương đương với 7,748 mg chất phân hủy (tính theo amoxicilin natri, $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$).

Chế phẩm không được có quá 9,0 % chất phân hủy, tính theo amoxicilin natri, $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Pha động A - pha động B (92 : 8).

Pha động A: Trộn 1 thể tích *acetonitril (TT)* với 99 thể tích dung dịch chứa 25 % (tt/tt) *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* đã được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*.

Pha động B: Trộn 20 thể tích *acetonitril (TT)* với 80 thể tích dung dịch chứa 25 % (tt/tt) *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* đã được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*.

Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ để tính khối lượng trung bình của thuốc trong một đơn vị chế phẩm, trộn đều rồi cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 60 mg amoxicilin vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml pha động A, lắc trong 15 phút sau đó lắc siêu âm trong 1 phút rồi thêm pha động A vừa đủ đến vạch, trộn đều và lọc.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn 0,070 % trong pha động A.

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 0,003 % amoxicilin trihydrat chuẩn và 0,0004 % cefadroxil chuẩn trong pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m) (cột Hypersil ODS là thích hợp).

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

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

Thể tích tiêm: 50 μ l.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải. Thử nghiệm chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa 2 pic amoxicilin và cefadroxil không nhỏ hơn 2. Điều chỉnh thành phần của pha động để đạt yêu cầu độ phân giải trên (nếu cần).

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

Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, trong một đơn vị chế phẩm từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, và vào hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản

Tránh ẩm, ở nhiệt độ không quá 25 °C.

Loại thuốc

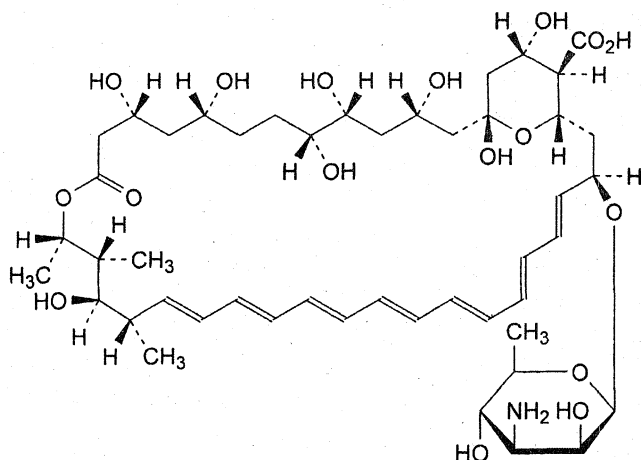
Kháng sinh nhóm beta lactam.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg, 1000 mg, tính theo amoxicilin.

AMPHOTERICIN B

Amphotericincum B



$C_{47}H_{73}NO_{17}$

P.t.l: 924,0

Amphotericin B là một hỗn hợp các polyen chống nấm được sản xuất bằng cách nuôi cấy một số giống *Streptomyces nodosus* hoặc bằng các phương pháp khác, chứa chủ yếu là amphotericin B.

Amphotericin B là acid (1*R*, 3*S*, 5*R*, 6*R*, 9*R*, 11*R*, 15*S*, 16*R*, 17*R*, 18*S*, 19*E*, 21*E*, 23*E*, 25*E*, 27*E*, 29*E*, 31*E*, 33*R*, 35*S*, 36*R*, 37*S*) -33-[(3-amino-3,6-dideoxy-β-D-mannopyranosyl)oxy]-1, 3, 5, 6, 9, 11, 17, 37-octa-hydroxy-15, 16, 18 trimethyl-13 - oxo-14, 39-dioxabicyclo-[33.3.1] nonatriaconta-19, 21, 23, 25, 27, 29, 31-heptaen-36 carboxylic.

Hoạt lực của chế phẩm không được nhỏ hơn 750 IU/mg tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu vàng hoặc da cam. Thực tế không tan trong nước, tan trong dimethyl sulfoxid và trong propylen glycol, khó tan trong dimethylformamid, rất khó tan trong methanol, thực tế không tan trong ethanol 96 %. Dung dịch chế phẩm loãng nhạy cảm với ánh sáng và bị mất hoạt tính ở pH thấp.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của amphotericin B chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm khác với phổ của chất chuẩn thì sấy chế phẩm ở 60 °C, áp suất không quá 0,7 kPa trong 1 giờ và tiến hành đo một phổ mới.

B. Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 5 ml *dimethyl sulfoxid* (TT) và pha loãng thành 50 ml bằng *methanol* (TT). Pha loãng 2 ml dung dịch này thành 200 ml bằng *methanol* (TT). Trong dải sóng từ 300 nm đến 450 nm (Phụ lục 4.1), dung dịch cho 3 cực đại hấp thụ ở 362 nm, 381 nm và 405 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở 362 nm và ở 381 nm phải từ 0,57 đến 0,61. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở 381 nm và ở 405 nm phải từ 0,87 đến 0,93.

C. Thêm 5 ml *acid phosphoric* (TT) vào 1 ml dung dịch chế phẩm 0,05 % trong *dimethyl sulfoxid* (TT) sao cho lớp acid nằm ở bên dưới, tránh làm trộn lẫn 2 lớp chất lỏng. Một vòng màu xanh lam xuất hiện ngay lập tức ở mặt tiếp xúc giữa 2 lớp chất lỏng. Lắc, màu xanh lam đậm được tạo thành. Thêm 15 ml *nước* và lắc, dung dịch sẽ chuyển thành màu vàng nhạt.

Hàm lượng tetraen

Không được quá 10,0 % và không được quá 5,0 % khi sử dụng để sản xuất thuốc tiêm. Tiến hành xác định theo phương pháp sau:

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 5 ml *dimethyl sulfoxid* (TT) và thêm *methanol* (TT) vừa đủ 50,0 ml. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 25,0 ml bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg amphotericin B chuẩn trong 5 ml *dimethyl sulfoxid* (TT) và thêm *methanol* (TT) vừa đủ 50,0 ml. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 25,0 ml bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25,0 mg nystatin chuẩn trong 25 ml *dimethyl sulfoxid* (TT) và thêm *methanol* (TT) vừa đủ 250,0 ml. Hút 2,0 ml dung dịch này, thêm *methanol* (TT) vừa đủ 25,0 ml.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1), dung dịch đối chiếu (2) ở bước sóng cực đại 282 nm và 304 nm, dùng *dung dịch dimethyl sulfoxid* 0,8 % (tt/tt) trong *methanol* (TT) làm mẫu trắng. Tính độ hấp thụ riêng của chế phẩm, của nystatin chuẩn và amphotericin B chuẩn ở cả 2 bước sóng, theo chất đã làm khô mỗi loại. Hàm lượng phần trăm tetraen được tính theo công thức sau:

$$F + \frac{100 (B_1S_2 - B_2S_1)}{(N_2B_1 - N_1B_2)}$$

Trong đó:

S_1 và S_2 là độ hấp thụ riêng của chế phẩm ở bước sóng 282 nm và 304 nm;

N_1 và N_2 là độ hấp thụ riêng của nystatin chuẩn ở bước sóng 282 nm và 304 nm;

B₁ và B₂ là độ hấp thụ riêng của amphotericin B chuẩn ở bước sóng 282 nm và 304 nm;
F là hàm lượng tetraen trong amphotericin B chuẩn.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; áp suất không quá 0,7 kPa; 60 °C).

Tro sulfat

Không được quá 3,0 % và không được quá 0,5 % khi sử dụng để sản xuất thuốc tiêm (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn

Nếu sử dụng để sản xuất thuốc tiêm mà không tiến hành tiệt khuẩn thì chế phẩm phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 1,0 IU/mg, nếu sử dụng để sản xuất thuốc tiêm mà không loại bỏ nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Trong quá trình định lượng, tất cả các dung dịch phải tránh ánh sáng. Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *dimethyl sulfoxid* (TT) và vừa lắc vừa thêm dung môi này đến vừa đủ 25,0 ml. Lắc dung dịch gốc liên tục và từ dung dịch gốc này pha loãng bằng *dimethyl sulfoxid* (TT) để thu được các dung dịch có nồng độ thích hợp (44,4; 66,7 và 100 IU/ml). Dung dịch cuối cùng được chuẩn bị bằng cách pha loãng 20 lần các dung dịch trên bằng *dung dịch đệm phosphat 0,2 M pH 10,5* (TT). Chuẩn bị đồng thời dung dịch chuẩn và dung dịch thử trong cùng một điều kiện. Tiến hành "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).

Bảo quản

Bảo quản trong lọ kín, tránh ánh sáng và giữ ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C. Nếu chế phẩm vô trùng, bảo quản trong đồ đựng vô trùng, kín.

Nhãn

Trên nhãn phải ghi rõ:
Khi chế phẩm không có nội độc tố vi khuẩn.
Khi chế phẩm vô khuẩn.
Khi chế phẩm phù hợp để sản xuất thuốc tiêm.

Loại thuốc

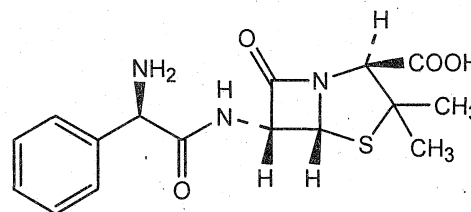
Chống nấm.

Chế phẩm

Viên ngậm. Hỗn dịch uống.

AMPICILIN

Ampicillinum



C₁₆H₁₉N₃O₄S

P.t.l: 349,4

Ampicilin là acid (6R)-6-(α-D-phenylglycylamino) penicilanic, phải chứa từ 96,0 % đến 100,5 % C₁₆H₁₉N₃O₄S, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, hơi tan trong nước, thực tế không tan trong acetone, ethanol 96 %, cloroform, dầu béo. Tan trong dung dịch acid loãng và dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D

Nhóm II: B, C, D

- Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ampicilin chuẩn.
- Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng theo định tính các penicilin (Phụ lục 8.2), dùng pha động B.
- Phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).
- Phải đáp ứng phép thử Nước.

Độ trong của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M* (TT), đồng thời hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch amoniac 2 M* (TT). Quan sát ngay sau khi hòa tan. Cả hai dung dịch trên không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2).

pH

Từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Xác định trên dung dịch chế phẩm 0,25 % trong nước không có carbon dioxyd (TT).

Góc quay cực riêng

Từ +280° đến +305°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Xác định trên dung dịch chế phẩm 0,25 % trong nước không có carbon dioxyd (TT).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) theo như mô tả trong phần Định lượng. Tiêm dung dịch chuẩn (2), rửa giải theo chế độ đẳng dòng. Tiêm dung dịch thử (2) vừa mới pha và rửa giải theo chế độ đẳng dòng. Ngay sau khi xuất hiện pic của ampicilin, tiến hành rửa giải gradient theo bảng sau. Nếu thành

phần pha động đã được điều chỉnh để đạt được độ phân giải theo yêu cầu, duy trì thành phần này ở "thời điểm không" trong rửa giải gradient.

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0	85	15
30	0	100
45	0	100

Cân bằng cột với pha động đã chọn ban đầu trong thời gian 15 phút. Tiêm pha động A trong điều kiện rửa giải gradient để có được mẫu trắng. Trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2), diện tích của bất kỳ pic nào, ngoài pic chính và pic của mẫu trắng, không được lớn hơn diện tích của pic chính có được trong sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (2) (1,0 %).

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Nước

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Acid acetic loãng - dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M - acetonitril - nước (0,5 : 50 : 50 : 899,5).

Pha động B: Acid acetic loãng - dung dịch kali dihydro-phosphat 0,2 M - acetonitril - nước (0,5 : 50 : 400 : 549,5).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 27,0 mg chế phẩm bằng pha động A trong bình định mức 50,0 ml. Thêm pha động A đến vạch.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 27,0 mg chế phẩm với pha động A trong bình định mức 10,0 ml. Thêm pha động A đến vạch.

Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan 27,0 mg ampicilin khan chuẩn bằng pha động A trong bình định mức 50,0 ml. Thêm pha động A đến vạch.

Dung dịch chuẩn (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch chuẩn (1) với pha động A trong bình định mức 20,0 ml. Thêm pha động A đến vạch.

Dung dịch chuẩn (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch chuẩn (2) với pha động A trong bình định mức 25,0 ml. Thêm pha động A đến vạch.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2,0 mg cefradin chuẩn bằng pha động A trong bình định mức 50,0 ml. Thêm pha động A đến vạch. Hút chính xác 5,0 ml dung dịch này, thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn (1).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4,6 mm) được nhồi octadecylsilyl silica gel (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành: Cân bằng cột với pha động theo tỉ lệ A - B (85 : 15). Tiêm dung dịch phân giải, thử nghiệm chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic chính ít nhất bằng 3,0. Nếu cần có thể điều chỉnh tỉ lệ A - B trong pha động. Hệ số dung lượng k' của pic đầu tiên (ampicilin) là 2,0 - 2,5.

Tiêm dung dịch chuẩn (3). Điều chỉnh hệ thống để thu được pic đạt tỉ lệ tín hiệu/nhiều ít nhất bằng 3.

Tiêm dung dịch chuẩn (1) 6 lần. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic không quá 1,0 %.

Tiêm lần lượt dung dịch thử (1) và dung dịch chuẩn (1). Tính hàm lượng phần trăm của ampicilin.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, để ở nhiệt độ dưới 30 °C.

Loại thuốc

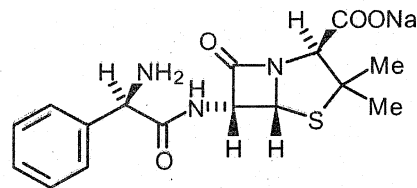
Kháng sinh.

Chế phẩm

Thuốc nang, viên nén, hỗn dịch, thuốc tiêm, thuốc bột.

AMPICILIN NATRI

Ampicillinum natrium



$C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$

P.t.l: 371,4

Ampicilin natri là muối natri của acid (2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic, phải chứa từ 91,0 đến 100,5 % $C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước, hơi tan trong aceton, thực tế không tan trong ether, trong dầu béo và dầu parafin.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 5 ml nước, thêm 0,5 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT), khuấy đều và

để yên 10 phút trong nước đá. Lọc tinh thể qua phễu lọc xốp nhỏ (Số độ xốp 40), rửa tủa bằng 2 ml đến 3 ml hỗn hợp nước - acetone (1 : 9), sấy tủa ở nhiệt độ 60 °C trong 30 phút. Phổ hồng ngoại của tủa thu được (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ampicilin trihydrat chuẩn.

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng theo định tính các penicilin (Phụ lục 8.2).

C. Phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và các cephalosporin (Phụ lục 8.3).

D. Chế phẩm phải cho phản ứng A của phép thử ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT) bằng cách cho từ từ và khuấy liên tục. Hòa tan 1,0 g chế phẩm khác trong 10,0 ml nước. Quan sát ngay sau khi hòa tan, cả hai dung dịch trên không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ quang (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm trong nước đo được ở bước sóng 430 nm không được lớn hơn 0,15.

pH

Từ 8,0 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 20 ml bằng cùng dung môi. Sau khi hòa tan 10 phút tiến hành đo pH.

Góc quay cực riêng

Từ +258° đến +287°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 62,5 mg chế phẩm trong dung dịch kali hydrophthalat 0,4 % và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng dung môi và tiến hành thử.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành sắc ký với các điều kiện như mô tả ở phần định lượng. Tiêm dung dịch đối chiếu (3) và rửa giải đẳng dòng đến khi xuất hiện pic ampicilin. Tiêm dung dịch thử (2) và tiến hành rửa giải đẳng dòng đến khi xuất hiện pic ampicilin. Sau khi pic ampicilin ra hết, ngay lập tức tiến hành gradient tuyến tính theo bảng:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 30	85 → 0	15 → 100	Gradient tuyến tính
30 - 45	0	100	Đẳng dòng
45 - 60	85	15	Cân bằng lại

Nếu thành phần pha động đã được điều chỉnh để đạt được yêu cầu về độ phân giải thì bắt đầu thời điểm 0 của chương trình gradient tuyến tính bằng pha động đã được điều chỉnh này.

Tiêm pha động A và tiến hành sắc ký như trên để làm mẫu trắng. Tiêm dung dịch đối chiếu (4), sắc ký đồ cho pic ampicilin và 1 pic khác có thời gian lưu tương

đối so với thời gian lưu của pic ampicilin là 2,8. Trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2): pic tương ứng với pic khác trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) không được có diện tích lớn hơn 4,5 lần diện tích pic chính thu được của dung dịch đối chiếu (3) (4,5 %), diện tích của bất kỳ pic phụ nào, trừ pic ampicilin và pic có thời gian lưu tương đối so với thời gian lưu của pic ampicilin là 2,8, không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được của dung dịch đối chiếu (3) (2 %). Bỏ qua các pic tương ứng với pic của mẫu trắng.

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic

Không được quá 0,8 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Methylen clorid

Không được quá 0,2 % (kl/kl).

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 1,0 ml ethylen clorid (TT) trong nước và pha loãng thành 500,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 1,0 ml methylen clorid (TT) trong nước và pha loãng thành 500,0 ml bằng cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch này, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng với nước thành 10,0 ml.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng với nước thành 10,0 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (1,5 m × 4 mm) được nhồi diatomit dùng cho sắc ký khí (TT) đã được tẩm 10 % (kl/kl) polyethylen glycol 1000 (TT).

Khí mang là nitrogen dùng cho sắc ký khí (TT), lưu lượng 40 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ: Cột ở 60 °C, buồng tiêm ở 100 °C, detector ở 150 °C.

Lấy tỉ trọng của methylen clorid ở 20 °C là 1,325 g/ml để tính hàm lượng.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không tiến hành tiệt trùng thì phải đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,15 IU/mg (Phụ lục 13.2).

Nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không tiến hành loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải thử chỉ tiêu này.

Định lượng

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Trộn 0,5 ml *dung dịch acid acetic loãng (TT)*, 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 50 ml *acetonitril (TT)*, thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Pha động B: Trộn 0,5 ml *dung dịch acid acetic loãng (TT)*, 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 400 ml *acetonitril (TT)*, thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 27,0 mg ampicilin khan chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng pha động A. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được pha loãng thành 25,0 ml bằng pha động A.

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

Dung dịch đối chiếu (4): Thêm 1,0 ml nước vào 0,20 g chế phẩm. Đun nóng dung dịch ở 60 °C trong 1 giờ. Pha loãng 0,5 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2,0 mg cefradin chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Lấy 5,0 ml dung dịch này thêm 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 31,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Chuẩn bị ngay trước khi dùng. Hòa tan 31,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột với hỗn hợp pha động A - pha động B (85 : 15). Tiêm dung dịch phân giải. Phép định lượng chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải ít nhất là 3,0. Nếu cần thiết điều chỉnh tỉ lệ pha động A - B. Hệ số dung lượng của pic đầu tiên (ampicilin) phải từ 2,0 đến 2,5. Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh hệ thống để tỉ số tín hiệu trên nhiều ít nhất là 3. Tiêm dung dịch đối chiếu (1) sáu lần. Phép thử chỉ có giá trị khi độ

lệch chuẩn tương đối của diện tích pic chính không quá 1,0 %. Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Tính hàm lượng phần trăm của ampicilin natri bằng cách nhân hàm lượng ampicilin với 1,063.

Bảo quản

Trong bao bì kín. Nếu chế phẩm vô trùng thì bảo quản trong bao bì vô trùng, kín.

BỘT PHA TIÊM AMPICILIN***Ampicillini pro injectione***

Bột pha tiêm ampicilin là bột kết tinh vô khuẩn của ampicilin natri đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với nước vô khuẩn để tiêm ngay trước khi dùng.

Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, phải đạt từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, tan trong nước.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A và C

Nhóm II: B, C và D

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ampicilin natri chuẩn.

Nếu phổ không phù hợp thì thực hiện phương pháp sau: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 0,25 g ampicilin trong 5 ml nước, thêm 0,5 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*, trộn đều và để yên 10 phút trong nước lạnh. Lọc qua phễu thủy tinh xếp số 3, rửa cặn với 2 ml đến 3 ml hỗn hợp 9 thể tích *acetone (TT)* và 1 thể tích nước, làm khô cặn ở 60 °C trong 30 phút và đo phổ hồng ngoại. Phổ hồng ngoại của cặn phải phù hợp với phổ hồng ngoại chuẩn của ampicilin trihydrat.

B. Trong phần định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng thời gian lưu với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

C. Chế phẩm phải có phản ứng đặc trưng của muối natri (Phụ lục 8.1).

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

Bản mỏng, dung môi khai triển, dung dịch đối chiếu (1) và (2), cách tiến hành thực hiện như mục định tính B của Nang ampicilin.

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 25 mg ampicilin natri trong 10 ml *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)*.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT)*, lắc kỹ (dung dịch A).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* vừa đủ 10 ml (dung dịch B).

Cả hai dung dịch đều phải trong. Nếu dung dịch đục thì không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2).

Độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch B ở bước sóng 430 nm không quá 0,15.

Giới hạn acid - kiềm

Dung dịch chế phẩm 10 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* có pH từ 8,0 đến 10,0. Đo trong vòng 10 phút sau khi pha dung dịch (Phụ lục 6.2).

Nước

Không quá 2 % (Phụ lục 10.3). Dùng 0,3 g bột thuốc.

Chất hấp thụ iod

Hòa tan khoảng 0,100 g chế phẩm trong 20 ml *nước*, thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)* và 25,0 ml *dung dịch iod 0,02 N (CĐ)*. Định lượng ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.

Song song làm mẫu trắng trong cùng điều kiện. Hiệu số giữa hai lần chuẩn độ biểu thị lượng chất hấp thụ iod có mặt.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CĐ)* tương ứng với 0,7392 mg chất hấp thụ iod. Tính tỷ lệ phần trăm chất hấp thụ iod trong mẫu thử. Tổng tỷ lệ phần trăm chất hấp thụ iod và tỷ lệ phần trăm ampicilin natri (cả hai loại đều tính theo chất khan) không được ít hơn 97,5 %.

1 mg $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ được xác định ở mục định lượng tương đương với 1,063 mg ampicilin natri, $C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$.

Nội độc tố vi khuẩn

Tiến hành thử theo chuyên luận "Phép thử nội độc tố vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).

Hòa tan một lượng chế phẩm trong *nước BET (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ ampicilin 9,5 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 1,5 IU/ml. Giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 1 M - dung dịch acid acetic 1 M (909 : 80 : 10 : 1).

Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ, tính khối lượng trung bình của thuốc trong một đơn vị chế phẩm, trộn đều. Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng

với khoảng 50 mg ampicilin vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động, lắc cho tan, pha loãng bằng pha động đến vạch, lắc đều và lọc. Hút 10,0 ml dịch lọc, pha loãng thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg ampicilin chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động, lắc cho tan, pha loãng bằng pha động đến vạch, lắc đều và lọc. Hút 10,0 ml dịch lọc, pha loãng thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch phân giải: Dung dịch có nồng độ ampicilin chuẩn 200 µg/ml và cephradine chuẩn 20 µg/ml pha trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Hypersil ODS là thích hợp).

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

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

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm dung dịch phân giải và điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của các pic ít nhất bằng nửa thang đo. Thử nghiệm chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa 2 pic ampicilin và cephradine không nhỏ hơn 3,0. Nếu cần, có thể điều chỉnh thành phần pha động để đạt điều kiện trên. Thử nghiệm chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của 6 lần tiêm dung dịch chuẩn nhỏ hơn 2,0 %.

Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong ampicilin chuẩn.

Bảo quản

Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 25 °C.

Loại thuốc

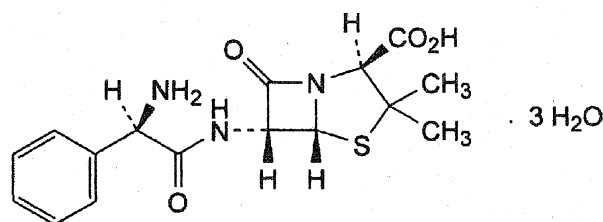
Kháng sinh nhóm beta - lactam.

Hàm lượng thường dùng

500 mg, 1000 mg.

AMPICILIN TRIHYDRAT

Ampicillinum trihydratum



$C_{16}H_{19}N_3O_4S \cdot 3H_2O$

P.t.l: 403,5

Ampicilin trihydrat là acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[*(2R)*-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3, 3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic trihydrat phải chứa từ 96,0 % đến 100,5 % $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, khó tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 % và dầu béo. Tan trong dung dịch acid loãng và dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ampicilin trihydrat chuẩn.

Các phép thử B, C, D được tiến hành như đã mô tả ở chuyên luận "Ampicilin".

Độ trong của dung dịch, pH, góc quay cực riêng, tạp chất liên quan; N, N - dimethylanilin, tro sulfat: Phải tuân theo các yêu cầu và tiến hành thử như đã mô tả trong chuyên luận "Ampicilin".

Nước

12,0 % đến 15,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,100 g chế phẩm.

Định lượng

Phải tuân theo các yêu cầu và tiến hành thử như đã mô tả trong chuyên luận "Ampicilin", trong đó thay các dung dịch thử (1) và dung dịch thử (2) như sau:

Dung dịch thử (1): Hòa tan 31,0 mg chế phẩm bằng pha động A trong bình định mức 50,0 ml. Thêm pha động A đến vạch.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 31,0 mg chế phẩm bằng pha động A trong bình định mức 10,0 ml. Thêm pha động A đến vạch.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, để ở nhiệt độ dưới 30 °C.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Thuốc nang, viên nén, thuốc tiêm, thuốc bột.

NANG AMPICILIN

Capsulae Ampicillini

Là nang cứng có chứa ampicilin khan hoặc ampicilin trihydrat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng, bột thuốc trong nang màu trắng ngà, không mùi hay gần như không mùi.

Định tính

A. Lấy một lượng bột thuốc đã nghiền mịn tương ứng khoảng 10 mg ampicilin, thêm 10 ml nước, lắc kỹ, lọc. Thêm vào dịch lọc 2 ml thuốc thử Fehling (TT), xuất hiện ngay màu tím đỏ.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % (TT) đã được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng acid acetic bằng (TT) (10 : 90).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng 125 mg ampicilin với 50 ml dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT), lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch ampicilin trihydrat chuẩn 0,25 % pha trong dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa 0,25 % ampicilin trihydrat chuẩn và 0,25 % amoxicilin trihydrat chuẩn, pha trong dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, đặt bản mỏng vào bình có hơi iod đến khi xuất hiện các vết, quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ thu được, vết chính của dung dịch thử và vết chính của dung dịch đối chiếu (1) phải giống nhau về vị trí, màu sắc và hình dạng. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách biệt nhau rõ ràng.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Thời gian: 60 min.

Cách tiến hành:

Thực hiện bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn và điều kiện sắc ký thực hiện như trong phần định lượng.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác một thể tích dịch lọc, pha trong pha động A để có nồng độ ampicilin chính xác khoảng 0,006 %.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 phút.

Mất khối lượng do làm khô

Cân chính xác khoảng 100 mg bột thuốc, sấy trong chân không dưới áp suất 5 mmHg ở 60 °C trong 3 giờ. Lượng mất đi phải từ 10,0 % đến 15,0 % khi chế phẩm chứa ampicilin trihydrat. Lượng mất đi không được lớn hơn 4 % khi chế phẩm chứa ampicilin khan.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Hỗn hợp gồm 1 thể tích *dung dịch acid acetic 10 % (TT)*, 100 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)*, 100 thể tích *acetonitril (TT)* và nước vừa đủ 2000 thể tích.

Pha động B: Hỗn hợp gồm 1 thể tích *dung dịch acid acetic 10 % (TT)*, 100 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)*, 800 thể tích *acetonitril (TT)* và nước vừa đủ 2000 thể tích.

Pha động: *Pha động A - pha động B (85 : 15)*.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch ampicilin chuẩn 0,006 % trong pha động A.

Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa 0,025 % ampicilin chuẩn và 0,002 % cephradine chuẩn, pha trong pha động A.

Dung dịch thử: Cân thuốc trong 20 nang, tính khối lượng trung bình, trộn đều và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột tương ứng với 60 mg ampicilin, lắc trong 15 phút với 80 ml pha động A rồi thêm pha động A đến vừa đủ thể tích 100,0 ml. Lọc, lấy 5,0 ml dịch lọc pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Nucleosil C18 là thích hợp).

Detector hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic ampicilin và pic cephradine phải không nhỏ hơn 3,0; có thể điều chỉnh thành phần pha động để đạt yêu cầu trên.

Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Tính hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, trong viên từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong ampicilin chuẩn.

Bảo quản

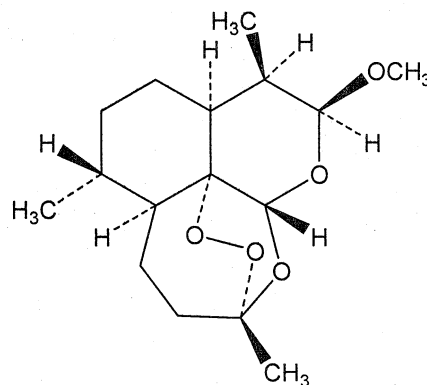
Để nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm beta - lactam.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg, tính theo ampicilin khan.

ARTEMETHER**Artemetherum**

$C_{16}H_{26}O_5$

P.t.l: 298,4

Artemether là (3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,10*S*,12*R*,12*aR*)-decahydro-10-methoxy-3,6,9-trimethyl-3,12-epoxy-12*H*-pyrano[4,3-*j*]-1,2-benzodioxepin, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{26}O_5$ tính theo chế phẩm đã làm khô khi định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao; từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{26}O_5$ tính theo chế phẩm đã làm khô khi định lượng bằng phương pháp quang phổ.

Tính chất

Tinh thể màu trắng hoặc bột kết tinh màu trắng.

Đễ tan trong ethyl acetat và ethanol, rất tan trong dicloromethan và aceton, thực tế không tan trong nước.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của artemether chuẩn hoặc phổ hồng ngoại đối chiếu của artemether.

B. Trong mục thử tạp chất liên quan bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương ứng về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3). Hoặc trong mục định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính tương ứng về thời gian lưu với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Lấy khoảng 30 mg chế phẩm, thêm khoảng 1 ml *ethanol (TT)* và khoảng 0,1 g *kali iodid (TT)*. Đun nóng hỗn hợp trên cách thủy, sẽ tạo thành màu vàng.

D. Hòa tan 30 mg chế phẩm trong 6 ml *ethanol (TT)*. Nhỏ vài giọt dung dịch thu được lên một khay sứ màu trắng, thêm một giọt *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)*, sẽ xuất hiện màu hồng.

Khoảng nóng chảy

Từ 86,0 °C đến 90,0 °C (Phụ lục 6.7).

Góc quay cực riêng

Từ +166° đến +173°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chế phẩm có nồng độ 10 mg/ml trong *ethanol* (TT).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; áp suất không quá 2,67 kPa; phosphor pentoxyd).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Tạp chất liên quan

Có thể áp dụng một trong hai phương pháp.

A. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Điều kiện sắc ký giống như mục định lượng (Phương pháp A).

Dung dịch thử: Hòa tan 100,0 mg chế phẩm trong vừa đủ 10,0 ml pha động.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng pha động.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (0,5 %). Không được quá một pic phụ có diện tích pic lớn hơn một nửa diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (0,25 %) và tổng diện tích của tất cả các pic phụ trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn hai lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %). Loại bỏ các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu.

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa* có khoảng sôi từ 40 °C đến 60 °C - *ethyl acetat* (7 : 3).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 100,0 mg chế phẩm trong *acetone* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng *acetone* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 200,0 ml bằng *acetone* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng *acetone* (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg artemether chuẩn trong vừa đủ 100 ml *acetone* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl các dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí. Phun *dung dịch vanilin* 5 % trong

acid sulfuric (TT) và kiểm tra các vết dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %) và không được có quá một vết phụ đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).

Định lượng

Có thể áp dụng một trong hai phương pháp.

A. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril* - *nước* (62 : 38).

Dung dịch thử: Hòa tan khoảng 100,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan khoảng 100,0 mg artemether chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 216 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính toán hàm lượng của $C_{16}H_{26}O_5$ dựa vào diện tích pic đáp ứng trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

B. Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1).

Cân chính xác khoảng 0,050 g chế phẩm, hòa tan trong vừa đủ 100,0 ml *ethanol* (TT). Hút chính xác 2,0 ml dung dịch thu được cho vào bình định mức dung tích 100,0 ml; thêm *dung dịch acid hydrochloric* 1 M trong *ethanol* (TT) vừa đủ đến vạch. Đậy kín bình và để trong cách thủy ở 55 °C trong 5 giờ, làm nguội đến nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ của dung dịch này tại bước sóng cực đại khoảng 254 nm trong cốc đo có bề dày 1 cm.

Tính toán hàm lượng $C_{16}H_{26}O_5$ bằng cách so sánh với độ hấp thụ của dung dịch chuẩn được chuẩn bị như dung dịch thử.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng và ở nhiệt độ mát.

Loại thuốc

Kháng ký sinh trùng sốt rét.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, thuốc nang.

NANG ARTEMETHER**Capsulae Artemetheri**

Là nang cứng chứa artemether.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nang” (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng, bên trong chứa bột thuốc màu trắng.

Định tính

A. Cân một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 80 mg artemether, thêm 10 ml *ethanol* (TT), lắc kỹ 5 - 10 phút, lọc (dịch lọc A). Lấy 3 ml dịch lọc A, thêm 0,1 g *kali iodid* (TT), lắc cho tan và đun trong nồi cách thủy, xuất hiện màu vàng nhạt.

B. Lấy vài giọt dịch lọc A cho vào chén sứ trắng, thêm 1 giọt *dung dịch anisaldehyd 1 % trong acid sulfuric* (TT), xuất hiện màu hồng.

C. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic artemether trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Hệ dung môi khai triển: *Ether dầu hòa* (khoảng sôi 40 °C đến 60 °C) - *ethyl acetat* (7 : 3).

Dung dịch thử: Cân một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg artemether, thêm 5 ml *aceton* (TT), lắc 10 phút, lọc. Sử dụng dịch lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích với *aceton* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 thể tích dung dịch đối chiếu (1) thành 10 thể tích với *aceton* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric* (TT) và quan sát dưới ánh sáng ban ngày.

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Ngoài ra, chỉ được có một vết đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 500 ml *nước* đối với nang 40 mg và 1000 ml đối với nang 100 mg.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 60 min.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Lấy 5,0 ml

dịch lọc vào bình định mức 25 ml, thêm *dung dịch acid hydrochloric 1 M trong ethanol* (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 40 mg artemether chuẩn vào bình định mức 200 ml, hòa tan với *ethanol* (TT), thêm *ethanol* (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức 50 ml, thêm 5 ml *nước* và pha loãng với *dung dịch acid hydrochloric 1 M trong ethanol* (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Làm nóng dung dịch thử và dung dịch chuẩn trong nồi cách thủy ở nhiệt độ 70 °C ± 1 °C trong 90 phút. Làm nguội tới nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 254 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrochloric 1 M trong ethanol* (TT) làm mẫu trắng. Dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{16}H_{26}O_5$ của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, đã hòa tan trong mỗi nang.

Yêu cầu: Không được ít hơn 65 % lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, so với hàm lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril* - *nước* (55 : 45).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch artemether chuẩn trong pha động, có nồng độ chính xác khoảng 4 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg artemether vào bình định mức 25 ml, thêm 20 ml pha động, lắc siêu âm 10 phút, làm nguội, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Dùng dịch lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

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

Tính hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, trong nang dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic artemether trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ $C_{16}H_{26}O_5$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

40 mg; 100 mg.

VIÊN NÉN ARTEMETHER***Tabellae Artemetheri***

Là viên nén chứa artemether.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

Tiến hành các phép thử như mô tả ở mục Định tính trong chuyên luận “Nang Artemether”.

Tạp chất liên quan

Phải đáp ứng các yêu cầu và tiến hành như mô tả ở mục Tạp chất liên quan trong chuyên luận “Nang Artemether”.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Phải đáp ứng các yêu cầu và tiến hành như mô tả ở mục Độ hòa tan trong chuyên luận “Nang Artemether”.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký và cách tiến hành: Thực hiện như mô tả ở mục Định lượng trong chuyên luận “Nang Artemether”.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg artemether vào bình định mức 25 ml, thêm 20 ml pha động, siêu âm 10 phút, làm nguội, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Dùng dịch lọc.

Tính hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic artemether trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ $C_{16}H_{26}O_5$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

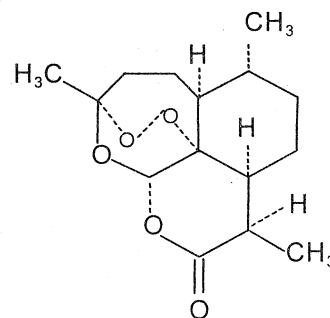
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

40 mg; 100 mg.

ARTEMISININ***Artemisininum***

$C_{15}H_{22}O_5$

P.t.l: 282,3

Artemisinin là (3*R*, 5*aS*, 6*R*, 8*aS*, 9*R*, 12*S*, 12*aR*) - octahydro - 3,6,9, - trimethyl - 3,12 - epoxy - 12*H* - pyrano [4,3 - *j*] - 1,2 - benzodioxepin - 10(3*H*) - on, được chiết từ cây Thanh cao hoa vàng (*Artemisia annua* L.), họ Cúc (Asteraceae), phải chứa từ 98,5 % đến 102,0 % $C_{15}H_{22}O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể hình kim không màu, không mùi. Thực tế không tan trong nước, rất tan trong dicloromethan, dễ tan trong aceton và ethylacetat, tan trong acid acetic băng, methanol và ethanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

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

B. Trên sắc ký đồ thu được ở mục “Tạp chất liên quan”, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải phù hợp về vị trí, hình dáng và màu sắc của vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

C. Hòa tan 5 mg chế phẩm trong 0,5 ml ethanol (TT), thêm 0,5 ml dung dịch hydroxylamin hydroclorid (TT) và 0,25 ml dung dịch natri hydroxyd 8 %. Đun hỗn hợp trong cách thủy đến sôi, để nguội, thêm 2 giọt dung dịch acid hydrocloric 7 % và hai giọt dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT), màu tím đậm xuất hiện ngay.

D. Hòa tan 5 mg chế phẩm trong khoảng 0,5 ml ethanol (TT), thêm 1,0 ml dung dịch kali iodid 8 %, 2,5 ml dung dịch acid sulfuric 10 % (TT) và 4 giọt dung dịch hồ tinh bột (TT); màu tím sẽ xuất hiện ngay.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Lấy chính xác 1,000 g chế phẩm hòa tan trong aceton (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Điểm chảy

Không được dưới 152 °C (Phụ lục 6.7).

Thử trên chế phẩm đã được nghiền thành bột mịn và sấy khô ở 105 °C trong 1 giờ.

Góc quay cực riêng

Từ +75° đến +78°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Xác định trên dung dịch chế phẩm 1,0 % trong *ethanol* (TT).

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ether dầu hoa có khoảng sôi từ 40 đến 60 °C - ether (1 : 1).

Dung dịch thử (1): Chứa 10 mg chế phẩm trong 1 ml *toluen* (TT).

Dung dịch thử (2): Chứa 0,10 mg chế phẩm trong 1 ml *toluen* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Chứa 0,05 mg chế phẩm trong 1 ml *toluen* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Chứa 0,025 mg chế phẩm trong 1 ml *toluen* (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Chứa 0,10 mg artemisinin chuẩn trong 1 ml *toluen* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun lên bản mỏng *dung dịch anisaldehyd trong acid sulfuric* (TT) và sấy bản mỏng ở 105 °C trong 7 phút. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày. Bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %), ngoài ra chỉ được có một vết phụ có màu đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Cân 0,050 g chế phẩm chuyển vào bình định mức có dung tích 100 ml, hòa tan bằng *ethanol* 96 % (TT), thêm cùng dung môi đến vạch, lắc đều. Pha loãng 10,0 ml dung dịch trên thành 100,0 ml bằng *ethanol* 96 % (TT). Lấy chính xác 10,0 ml dung dịch trên chuyển vào bình định mức có dung tích 50 ml và thêm *dung dịch natri hydroxyd* 0,05 M đến vạch và làm ấm trong nồi cách thủy ở 50 °C ± 1 °C trong 30 phút. Lấy ra để nguội ở nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ (Phụ lục

4.1) của dung dịch này ở bước sóng 292 nm trong cốc đo dày 1 cm.

Mẫu trắng: Lấy 10 ml *ethanol* 96 % (TT) và thêm *dung dịch natri hydroxyd* 0,05 M vừa đủ 50 ml.

Tính hàm lượng artemisinin (C₁₅H₂₂O₅) trong chế phẩm bằng cách so sánh độ hấp thụ ánh sáng với artemisinin chuẩn được tiến hành trong cùng điều kiện và cùng thời gian với chế phẩm.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Điều trị bệnh sốt rét.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc đạn.

NANG ARTEMISININ***Capsulae Artemisinini***

Là nang cứng có chứa artemisinin.

Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng artemisinin, C₁₅H₂₂O₅, từ 95,0 % đến 105,0 % so với hàm lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng, bột thuốc trong nang màu trắng, không mùi, vị hơi đắng.

Định tính

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu và các phép thử như mô tả ở mục Định tính trong chuyên luận "Viên nén Artemisinin", dùng bột thuốc trong nang thay cho bột viên.

Định lượng

Phải đáp ứng các yêu cầu và tiến hành như mô tả ở mục Định lượng trong chuyên luận "Viên nén Artemisinin".

Dung dịch thử được chuẩn bị bằng cách cân 20 nang để tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, sau đó tiếp tục tiến hành như mô tả, thay bột viên bằng bột thuốc trong nang.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

250 mg.

VIÊN NÉN ARTEMISININ**Tabellae Artemisinini**

Là viên nén chứa artemisinin.

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

Hàm lượng artemisinin, $C_{15}H_{22}O_5$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng, không mùi, vị đắng.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Toluen - ethylacetat* (95 : 5).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với 0,25 g artemisinin trong 25 ml *cloroform* (TT), lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch artemisinin chuẩn 1 % trong *cloroform* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 μ l mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun lên bản mỏng *dung dịch ceri sulfat 1 % trong acid sulfuric 10 %* (TT), sấy bản mỏng ở 110 °C trong khoảng 5 - 10 phút, quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải giống nhau về vị trí, màu sắc và kích thước.

B. Lấy một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 50 mg artemisinin, thêm 20 ml *cloroform* (TT), khuấy kỹ, lọc, làm bay hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô. Lấy 5 mg căn khô, thêm 0,5 ml *ethanol* (TT), 0,4 ml *dung dịch kali iodid* (TT), 2,5 ml *dung dịch acid sulfuric loãng* (TT) và 4 giọt *hồ tinh bột* (TT), lập tức có màu tím xuất hiện.

C. Lấy 5 mg căn khô còn lại trong phép thử B, thêm 0,5 ml *ethanol* (TT), 0,5 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid* (TT) và 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd 5 %* (TT). Đun nóng trên cách thủy tới khi sôi nhẹ. Để nguội, thêm 2 giọt *acid hydrocloric* (TT) và 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 %* (TT), lập tức xuất hiện màu tím đỏ đậm.

Định lượng

Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1).

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,050 g artemisinin, hòa tan bằng *ethanol 96 %* (TT) trong một bình định mức 100 ml. Thêm *ethanol 96 %* (TT) đến vạch, trộn đều, lọc qua giấy lọc khô, bỏ 5 đến 10 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml

với *ethanol 96 %* (TT). Lấy chính xác 10,0 ml dung dịch thu được chuyển vào bình định mức 50 ml, thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M* (TT) vừa đủ đến vạch và đun nóng trong cách thủy ở 50 °C trong 30 phút. Lấy ra làm nguội tới nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch ở bước sóng 292 nm trong cốc đo 1 cm. Mẫu trắng là 10 ml *ethanol 96 %* (TT), thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M* (TT) vừa đủ 50 ml.

Song song tiến hành một dung dịch chuẩn artemisinin có nồng độ tương đương như dung dịch thử.

Tính hàm lượng artemisinin, $C_{15}H_{22}O_5$, từ độ hấp thụ ánh sáng của các dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ của $C_{15}H_{22}O_5$ trong dung dịch chuẩn.

Bảo quản

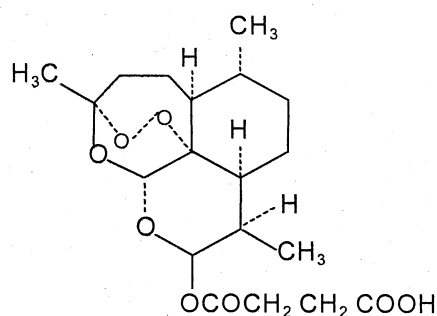
Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng, để nơi mát.

Loại thuốc

Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

250 mg.

ARTESUNAT**Artesunatum**

$C_{19}H_{28}O_8$

P.t.l: 384,4

Artesunat là (3*R*, 5*aS*, 6*R*, 8*aS*, 9*R*, 10*S*, 12*R*, 12*aR*)-Decahydro-3,6,9-trimethyl-3,12-epoxy-12*H*-pyrano [4,3-*j*]-1,2-benzodioxepin-10-ol, hydrogen succinat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{19}H_{28}O_8$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, mịn. Rất khó tan trong nước, rất tan trong dicloromethan, dễ tan trong aceton và ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của artesunat chuẩn.

B. Trên sắc ký đồ thu được ở mục "Tạp chất liên quan", vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung

dịch thử phải phù hợp về vị trí, hình dạng và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

C. Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *cloroform* (TT) trên cách thủy. Làm bay hơi 2 đến 3 giọt dung dịch này trong đĩa sứ đến khô trên cách thủy, thêm vào cần 1 giọt *dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric* (TT) sẽ xuất hiện màu đỏ.

D. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong khoảng 1 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid 7 % trong ethanol 90 %* (TT), thêm 3 ml dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol. Đun nóng hỗn hợp trong cách thủy đến sôi, để nguội, acid hóa bằng *dung dịch acid hydrocloric 10%* (TT) và thêm 2 giọt *dung dịch sắt* (III) *clorid 5 %* (TT), dung dịch xuất hiện màu tím đỏ.

Độ trong của dung dịch

Artesunat dự định dùng để pha chế thuốc tiêm phải đáp ứng phép thử này.

Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong 10 ml dung dịch tiêm natri hydrocarbonat 5 %, dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2).

Góc quay cực riêng

Từ +10° đến +14°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Xác định trên dung dịch chế phẩm 4,0 % trong *cloroform* (TT) và ở nhiệt độ 25 °C.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silicagel G đã hoạt hóa ở 120 °C trong 30 phút.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - toluen (1 : 1).

Dung dịch thử: Chứa 10 mg chế phẩm trong 1 ml *cloroform* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Chứa 0,1 mg dihydroartemisinin trong 1 ml *cloroform* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Chứa 0,05 mg dihydroartemisinin trong 1 ml *cloroform* (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Chứa 10 mg artesunat chuẩn trong 1 ml *cloroform* (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric* (TT). Sấy ở 105 °C trong 10 phút và quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, ngoài vết chính bất kỳ vết phụ nào tương ứng với vết dihydroartemisinin không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và không được quá một vết phụ có màu đậm hơn màu của vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Điểm chảy

132 °C đến 135 °C (Phụ lục 6.7).

pH

Lắc kỹ 0,50 g chế phẩm trong 50 ml *nước không có carbon dioxyd* (TT) và lọc. pH của dịch lọc từ 3,5 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).

Lắc kỹ 0,50 g chế phẩm với 30 ml *nước* và lọc qua giấy lọc đã rửa hết ion clorid. Bỏ 4 ml dịch lọc đầu, lấy 15 ml dịch lọc tiến hành thử.

Kim loại nặng

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

Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 5,0 ml *dung dịch chì mẫu một phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 2,000 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào khác để diệt khuẩn thì phải đáp ứng phép thử "Thử vô khuẩn" (Phụ lục 13.7).

Định lượng

Cân 0,130 g chế phẩm chuyển vào bình định mức dung tích 100 ml, hòa tan bằng *ethanol* (TT), thêm đến vạch bằng cùng dung môi và lắc đều. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch trên chuyển vào bình định mức dung tích 50 ml và thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* đến vạch và làm ấm trong nồi cách thủy ở 50 °C ± 1 °C trong 60 phút. Làm nguội nhanh bằng nước lạnh. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được trong vòng 20 phút ở bước sóng 289 ± 1 nm trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*.

Tính hàm lượng artesunat (C₁₉H₂₈O₈) trong chế phẩm bằng cách so sánh độ hấp thụ ánh sáng với artesunat chuẩn được tiến hành trong cùng điều kiện và cùng thời gian với chế phẩm.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Điều trị bệnh sốt rét.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén.

BỘT PHA TIÊM ARTESUNAT**Artesunati pro injectione**

Bột pha tiêm artesunat là bột kết tinh vô trùng của artesunat, đựng trong lọ thủy tinh kín vô trùng.

Mỗi lọ thuốc có kèm theo một ống 1 ml thuốc tiêm natri hydrocarbonat 5 % để làm dung môi hòa tan artesunat khi dùng.

Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng artesunat, $C_{19}H_{28}O_8$, phải từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột kết tinh trắng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Chế phẩm phải có phổ hồng ngoại phù hợp với phổ hồng ngoại chuẩn của artesunat (Phụ lục 4.2).

B. Tiến hành như mô tả trong phép thử B của phần Định tính trong chuyên luận “Artesunat”.

C. Tiến hành như mô tả trong phép thử C của phần Định tính trong chuyên luận “Artesunat”.

D. Tiến hành như mô tả trong phép thử D của phần Định tính trong chuyên luận “Artesunat”.

Độ trong của dung dịch

Dùng bơm tiêm sạch bơm 1 ml dung dịch tiêm natri hydrocarbonat 5 % vào một lọ thuốc. Lắc nhẹ cho thuốc tan hoàn toàn. Làm như vậy với 9 lọ khác. Soi độ trong của các dung dịch thu được theo Phụ lục 11.8, mục B. Không được có nhiều hơn 1 lọ có vật thể nhìn thấy.

pH

Lắc kỹ 0,50 g chế phẩm trong 50 ml nước không có carbon dioxyl (TT) và lọc. pH của dịch lọc phải từ 3,5 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4).

Lắc kỹ 0,50 g chế phẩm với 30 ml nước và lọc qua giấy lọc đã rửa hết ion clorid. Bỏ 4 ml dịch lọc đầu, lấy 15 ml dịch lọc tiến hành thử.

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 2,000 g bột thuốc.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel G đã hoạt hóa ở 120 °C trong 30 phút

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - toluen (1 : 1).

Dung dịch thử: Chứa 10 mg chế phẩm trong 1 ml cloroform (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Chứa 0,1 mg dihydroartemisinin trong 1 ml cloroform (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Chứa 0,05 mg dihydroartemisinin trong 1 ml cloroform (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Chứa 10 mg artesunat chuẩn trong 1 ml cloroform (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun lên bản mỏng dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric (TT). Sấy ở 105 °C trong 10 phút và quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, ngoài vết chính, vết phụ tương ứng với vết dihydroartemisinin không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và không được quá một vết phụ có màu đậm hơn màu của vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp đồng thể tích của acetonitril (TT) và dung dịch đệm phosphat pH 3,0 [hòa tan 1,36 g kali dihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước, điều chỉnh dung dịch tới pH 3,0 bằng acid phosphoric đậm đặc (TT)].

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 100 mg chế phẩm vào bình định mức 25 ml, thêm khoảng 15 ml acetonitril (TT), lắc để hòa tan và thêm acetonitril (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch artesunat chuẩn trong acetonitril (TT) có nồng độ chính xác khoảng 4 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 216 nm.

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký. Tiêm riêng biệt 6 lần dung dịch chuẩn, chạy sắc ký để kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký. Độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng artesunat, $C_{19}H_{28}O_8$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{19}H_{28}O_8$ của artesunat chuẩn.

Bảo quản

Thuốc tiêm artesunat được bảo quản trong lọ kín, để ở nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

Lọ 60 mg.

VIÊN NÉN ARTESUNAT

Tabellae Artesunati

Là viên nén chứa artesunat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng artesunat, $C_{19}H_{28}O_8$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

Có thể chọn một trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C và D.

A. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg artesunat, thêm 25 ml *acetone* (TT). Lắc kỹ, lọc, bay hơi dịch lọc đến khô ở nhiệt độ phòng. Làm khô cần 24 giờ trong bình hút ẩm chứa silica gel. Phở hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cần thu được phải phù hợp với phở hồng ngoại đối chiếu của artesunat.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ether dầu hoả (khoảng sôi 40 - 60 °C) - ethyl acetat - acid acetic (48 : 36 : 1).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 5 mg artesunat với 10 ml *dicloromethan* (TT), lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch artesunat chuẩn 0,05 % trong *dicloromethan* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và để khô ngoài không khí, sau đó phun *dung dịch vanilin* 5 % trong *acid sulfuric*, quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày.

Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, hình dạng và màu sắc.

C. Cân một lượng bột viên tương ứng với 100 mg artesunat, thêm 40 ml *ethanol* (TT), lắc kỹ để hòa tan và lọc. Lấy một nửa phần dịch lọc (một nửa phần dịch lọc còn lại để thử phản ứng D) thêm vào 1 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid* trong *ethanol* (TT) và 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd* 2 M (TT). Đun hỗn hợp trong cách thủy đến sôi, để nguội, acid hóa bằng

dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT), thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT), dung dịch xuất hiện màu tím đỏ.

D. Bốc hơi phần dịch lọc còn lại trong phản ứng C trên cách thủy đến còn 5 ml. Lấy một vài giọt cho vào một khay sứ trắng, thêm một giọt *dung dịch vanilin* 5 % trong *acid sulfuric* (TT) sẽ xuất hiện màu nâu đỏ.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ether dầu hoả (khoảng sôi 40 - 60 °C) - ethyl acetat - acid acetic (48 : 36 : 1).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng 50 mg artesunat với 10 ml *dicloromethan* (TT), lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 100 thể tích bằng *dicloromethan* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích bằng *dicloromethan* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí, sau đó phun *dung dịch vanilin* 5 % trong *acid sulfuric* (TT), quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và không được có quá một vết phụ có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước cất.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 20 ml dịch lọc vào bình định mức 25 ml, thêm 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd* 1 M (TT), hòa loãng với nước vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Chuẩn bị 25 ml dung dịch chuẩn có nồng độ 0,045 mg artesunat trong 1 ml trong *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (TT).

Làm ấm các bình dung dịch chuẩn và dung dịch thử trong nồi cách thủy ở nhiệt độ 50 ± 1 °C trong 45 phút. Sau đó làm nguội nhanh bằng cách ngâm bình trong nước mát.

Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 289 nm (Phụ lục 4.1) trong vòng 20 phút kể từ lúc lấy ra khỏi nồi cách thủy, cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (TT) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng artesunat, $C_{19}H_{28}O_8$, đã hòa tan trong mỗi viên từ độ hấp thụ đo được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{19}H_{28}O_8$ của artesunat chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 60 % lượng artesunat, $C_{19}H_{28}O_8$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký và cách tiến hành: Như mô tả trong mục Định lượng của chuyên luận "Bột pha tiêm artesunat".

Dung dịch thử: Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 100 mg artesunat, thêm 25,0 ml *acetonitril* (TT), lắc kỹ, lọc.

Cách tiến hành:

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

Tính hàm lượng artesunat, $C_{19}H_{28}O_8$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{19}H_{28}O_8$ của artesunat chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

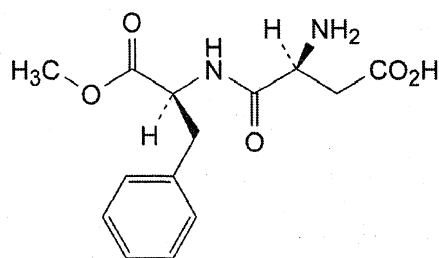
Thuốc chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

50 mg.

ASPARTAM

Aspartamum



$C_{14}H_{18}N_2O_5$

P.t.l: 294,3

Aspartam là acid (3S)-3-amino-4-[[[(1S)-1-benzyl-2-methoxy-2-oxoethyl]amino]-4-oxobutanoic, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{14}H_{18}N_2O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, hơi hút ẩm.

Khó tan hoặc hơi tan trong nước và ethanol 96 %, thực tế không tan trong hexan và dicloromethan.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B.

Nhóm II: A, C, D.

A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT), pha loãng đến 100 ml với cùng dung môi. Đo phổ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 300 nm (Phụ lục 4.1). Dung dịch phải có các cực đại hấp thụ tại 247 nm, 252 nm, 258 nm và 264 nm.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của aspartam chuẩn.

C. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel* G.

Dung môi khai triển: Nước - acid formic khan - *methanol* - *dicloromethan* (2 : 4 : 30 : 64).

Dung dịch thử: Hòa tan 15 mg chế phẩm trong 2,5 ml nước, pha loãng thành 10 ml bằng *acid acetic* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 15 mg aspartam chuẩn trong 2,5 ml nước và pha loãng thành 10 ml bằng *acid acetic* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l các dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí. Phun *dung dịch ninhydrin* (TT) và sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 15 phút. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Hòa tan khoảng 20 mg chế phẩm trong 5 ml *methanol* (TT), thêm 1 ml *dung dịch hydroxylamin kiềm* (TT₁). Đun nóng trên cách thủy trong 15 phút. Để nguội, điều chỉnh pH đến 2 bằng *dung dịch acid hydrocloric loãng* (TT). Thêm 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid* 10,5 % (TT), màu đỏ nâu xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,8 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch màu mẫu VL₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Độ dẫn điện

Không được quá 30 μ S.cm⁻¹ (Phụ lục 6.10).

Xác định độ dẫn điện của dung dịch S (C₁) và của nước đã dùng để chuẩn bị dung dịch S (C₂). Các kết quả đọc được phải ổn định, chỉ được lệch 1 % trong khoảng thời gian 30 giây. Tính độ dẫn điện của dung dịch S bằng công thức: $C_1 - 0,992C_2$.

Góc quay cực riêng

Từ +14,5° đến +16,5°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *dung dịch acid formic khan* 69,0 % và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Đo góc quay cực của dung dịch thu được.

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp *acetonitril* - *dung dịch kali dihydrophosphat* 0,68 % (TT) đã được điều chỉnh pH đến 3,7 bằng *acid phosphoric* (TT) (10 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,60 g chế phẩm trong hỗn hợp *acid acetic băng - nước* (1,5 : 98,5) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 9,0 mg diketopiperazin chuẩn trong hỗn hợp *acid acetic băng - nước* (1,5 : 98,5) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 30,0 mg *phenylalanin* (TT) trong hỗn hợp *acid acetic băng - nước* (15 : 85) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 3,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 30,0 mg *L-aspartyl-L-phenylalanin* (TT) trong hỗn hợp *acid acetic băng - nước* (15 : 85) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng *nước*. Trộn 1,0 ml dung dịch thu được với 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tinh C (5 đến 10 μm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (3). Điều chỉnh độ nhạy của thang đo sao cho chiều cao của pic chính không thấp hơn 50 % của toàn thang đo. Tiêm dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch phân giải, độ phân giải giữa hai pic của *phenylalanin* và *L-aspartyl-L-phenylalanin* ít nhất phải bằng 3,5.

Tiêm dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu với thời gian rửa giải gấp hai lần thời gian lưu của aspartam. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: Diện tích của pic tương ứng với diketopiperazin không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,5 %) và diện tích của pic tương ứng với *phenylalanin* không được lớn hơn pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Tổng diện tích của tất cả các pic phụ, ngoài pic chính, trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,5 %), loại bỏ các pic của dung môi pha mẫu.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3.

Dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 4,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,250 g chế phẩm, hòa tan trong hỗn hợp gồm 1,5 ml *acid formic khan* (TT) và 60 ml *acid acetic khan* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CĐ). Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CĐ) tương đương với 29,43 mg $C_{14}H_{18}N_2O_5$.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín.

Loại thuốc

Chất làm ngọt.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc bột gói.

THUỐC BỘT ASPARTAM***Pulveris Aspartami***

Là thuốc bột chứa aspartam.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận Thuốc bột (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng aspartam, $C_{14}H_{18}N_2O_5$, từ 90 % đến 110 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột màu trắng, có vị ngọt.

Định tính

A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *ethanol* (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi, lắc đều, lọc. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 200 đến 300 nm, phải cho các cực đại hấp thụ tại 247 nm, 252 nm, 258 nm và 264 nm

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

Bản mỏng: *Silicagel G*.

Dung môi khai triển: *Nước - acid formic - methanol - methylen clorid* (2 : 4 : 30 : 64).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột chế phẩm tương ứng với 15 mg aspartam trong 2,5 ml *nước*, thêm *acid acetic* (TT) vừa đủ 10 ml.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch aspartam chuẩn 0,15 % trong hỗn hợp gồm 2,5 thể tích *nước* và 7,5 thể tích *acid acetic* (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch ninhydrin 2 % (TT)* và sấy ở 100 - 105 °C trong 15 phút. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ mịn

Thuốc bột phải đạt yêu cầu Bột rất mịn (Phụ lục 3.5).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 9,0 % (Phụ lục 9.6).

(1 g; 80 °C).

Định lượng

Cân 20 đơn vị chế phẩm, xác định khối lượng trung bình, trộn đều. Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng 40 mg aspartam vào bình định mức 100 ml, hòa tan bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và thêm đến định mức với cùng một dung môi, lắc đều. Lọc, bỏ dịch lọc đầu. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được ở bước sóng 258 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. So sánh với dung dịch aspartam chuẩn 0,040 % trong *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*.

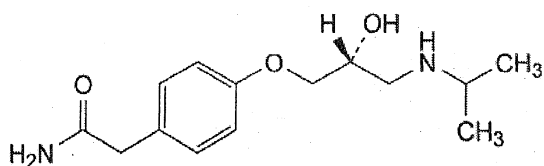
Tính hàm lượng aspartam, $C_{14}H_{18}N_2O_5$, trong chế phẩm dựa vào hàm lượng $C_{14}H_{18}N_2O_5$ trong aspartam chuẩn.

Bảo quản

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

Hàm lượng thường dùng

1 g.

ATENOLOL**Atenololum**

và đồng phân đối quang

$C_{14}H_{22}N_2O_3$

P.t.l: 266,3

Atenolol là 2-[4-[(2*RS*)-2-hydroxy-3-[(1-methylethyl)-amino]propoxy]phenyl]acetamid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{14}H_{22}N_2O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, hơi tan trong nước, tan trong ethanol, khó tan trong methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A

Nhóm II: B, C, D

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của atenolol chuẩn.

B. Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 100 ml *methanol (TT)*. Pha loãng 10,0 ml dung dịch trên với *methanol (TT)* thành 100 ml. Đo phổ hấp thụ từ ngoại (Phụ lục 4.1) từ 230 nm đến 350 nm, dung dịch có hai cực đại hấp thụ ở 275 nm và 282 nm. Tỷ số độ hấp thụ cực đại đo ở 275 nm và 282 nm từ 1,15 đến 1,20.

C. Điểm chảy: Từ 152 °C đến 155 °C (Phụ lục 6.7).

D. Sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac - methanol (1 : 99)

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 1 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg atenolol chuẩn trong 1 ml *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Khai triển sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và kích thước.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu của dung dịch màu chuẩn tương tự ở mức 6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực

Từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).

Đo góc quay cực của dung dịch S.

Clorid

Không được quá 0,1 %.

Hòa tan 50 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 ml *acid nitric loãng (TT)* và 15 ml nước. Dùng dung dịch này không thêm tiếp acid nitric loãng để thử (Phụ lục 9.4.5).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động và điều kiện sắc ký được mô tả ở phần định lượng.

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 100,0 ml pha động.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử với pha động thành 100,0 ml.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu và tiếp tục chạy sắc ký trong khoảng thời gian gấp 6 lần thời gian lưu của atenolol. Tính hàm lượng (phần trăm) của từng tạp chất xuất hiện trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử theo công thức:

$$0,5 (r_i/r_a)$$

Trong đó:

r_i là diện tích pic của từng tạp chất thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử;

r_a là diện tích của pic chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Hàm lượng (phần trăm) của từng tạp chất tìm thấy không được lớn hơn 0,25 %. Tổng hàm lượng (phần trăm) của các tạp không được lớn hơn 0,5%. Bỏ qua bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 1,1 g *natri 1-heptansulfonat (TT)* và 0,71 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong 700 ml nước. Thêm 2 ml *dibutylamin (TT)* và chỉnh pH về 3,0 bằng *dung dịch acid phosphoric 0,8 M*. Thêm 300 ml *methanol (TT)*, trộn đều, lọc và đuổi khí trước khi dùng.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan chính xác một lượng atenolol chuẩn trong pha động để thu được một dung dịch có nồng độ khoảng 0,01 mg/ml.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này với pha động thành 50,0 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (30 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 226 nm.

Tốc độ dòng: 0,6 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cân bằng cột bằng pha động ở tốc độ dòng 1,0 ml/min trong khoảng 30 phút.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm 6 lần dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 5000, hệ số đối xứng của pic atenolol không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic atenolol phải nhỏ hơn 2,0 %. Nếu cần thiết, điều chỉnh lại tỉ lệ các thành phần trong pha động.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Tính hàm lượng của atenolol ($C_{14}H_{22}N_2O_3$) từ diện tích pic của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của atenolol chuẩn.

Bảo quản

Bảo quản trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chẹn đối giao cảm beta.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc tiêm, dung dịch uống.

VIÊN NÉN ATENOLOL

Tabellae Atenololi

Là viên nén, hay viên bao chứa atenolol.

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

Hàm lượng atenolol, $C_{14}H_{22}N_2O_3$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng, hay viên bao màu đồng nhất.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng 230 - 350 nm có các hấp thụ cực đại ở khoảng 276 nm và 283 nm.

B. Trong phần Tạp chất liên quan, thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (1) phải tương ứng với thời gian lưu của pic atenolol trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (3).

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml nước, điều chỉnh pH tới 3,0 với *acid phosphoric (TT)*.

Pha động: Hòa tan 1,30 g *natri octansulfonat (TT)* trong hỗn hợp 700 ml dung dịch đệm phosphat và 300 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch (1): Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 50 mg atenolol, thêm 40 ml pha động, siêu âm 20 phút, pha loãng thành 50,0 ml với pha động, lọc. Sử dụng dịch lọc.

Dung dịch (2): Pha loãng 1 ml dung dịch (1) thành 100 ml với pha động.

Dung dịch (3): Dung dịch atenolol chuẩn 0,1 % trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 275 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch (2), điều chỉnh sao cho chiều cao của pic chính bằng 20 % thang đo. Tiêm dung dịch (1), tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp ba lần thời gian lưu của pic chính. Tổng diện tích của các pic phụ trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (1) không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (2).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 9 ml acid hydrochloric (TT) pha loãng thành 1000 ml với nước.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 10 µg atenolol/ml. Pha dung dịch atenolol chuẩn trong môi trường hòa tan để có nồng độ chính xác khoảng 10 µg/ml. Đo độ hấp thụ của các dung dịch ở bước sóng 224 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{14}H_{22}N_3O_3$ của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng atenolol, $C_{14}H_{22}N_2O_3$, đã hòa tan trong mỗi viên.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng atenolol, $C_{14}H_{22}N_2O_3$, so với hàm lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Cân 20 viên (đã loại bỏ lớp vỏ bao, nếu là viên bao), nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 35 mg atenolol vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml ethanol (TT), làm nóng hỗn dịch tới 60 °C và lắc trong 15 phút, để nguội, thêm ethanol (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Lấy 5,0 ml dịch lọc, pha loãng thành 50,0 ml với ethanol (TT).

Pha dung dịch atenolol chuẩn trong ethanol (TT) có nồng độ chính xác khoảng 0,07 mg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở bước sóng khoảng 276 nm trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là ethanol (TT).

Tính hàm lượng atenolol, $C_{14}H_{22}N_2O_3$, trong viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{14}H_{22}N_2O_3$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

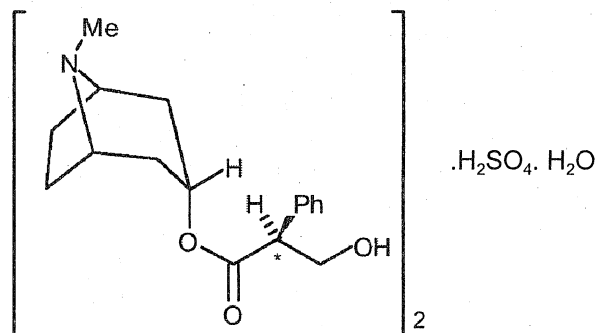
Chống tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng

25 mg; 50 mg; 100 mg.

ATROPIN SULFAT

Atropini sulfas



$(C_{17}H_{23}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$

P.t.l: 694,8

Atropin sulfat là (1R, 3r, 5S)-tropan-3-yl-(±)-tropat sulfat monohydrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $(C_{17}H_{23}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Tinh thể không màu hay bột kết tinh màu trắng, không mùi. Chế phẩm chảy ở khoảng 190 °C và bị phân hủy khi tiến hành đo trên chế phẩm được sấy ở 135 °C trong 15 phút. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether và cloroform.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, E.

Nhóm II: C, D, E, F.

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

B. Dung dịch nước cho thấy hầu như không cho góc quay cực (xem phép thử Góc quay cực riêng).

C. Hòa tan khoảng 50 mg chế phẩm trong 5 ml nước, thêm 5 ml dung dịch acid picric (TT). Lọc, rửa tủa bằng nước và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 2 giờ. Tủa chảy ở nhiệt độ từ 174 °C đến 179 °C (Phụ lục 6.7).

D. Thêm 0,2 ml acid nitric bốc khói (TT) vào 1 mg chế phẩm và bốc hơi trong cách thủy tới khô. Để nguội cẩn, thêm 2 ml acetone (TT) và 0,1 ml dung dịch kali hydroxyd 3 % trong methanol. Màu tím xuất hiện.

E. Cho phản ứng đặc trưng của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

F. Cho phản ứng của alcaloid (Phụ lục 8.1).

pH

Hòa tan 0,60 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 30 ml với cùng dung môi. Dung dịch có pH từ 4,5 đến 6,2 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ -0,50° đến +0,05°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Cân chính xác khoảng 2,5 g chế phẩm, hòa tan trong nước và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi, đo trong ống dài 2 dm.

Alcaloid lạ và sản phẩm phân hủy

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Aceton - nước - amoniac đậm đặc* (90 : 7 : 3).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10 ml bằng *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 15 phút, để nguội, phun thuốc thử *Dragendorff* (TT). Bất cứ vết phụ nào của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %) và chỉ được có 1 vết phụ đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Apoatropin

A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 245 nm không được lớn hơn 4,0 (khoảng 0,5 %) tính theo chế phẩm khan.

Dùng dung dịch chế phẩm 0,1 % trong dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (TT) để đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1).

Nước

2,0 % đến 4,0 % (Phụ lục 10.3).

Sử dụng 0,50 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Cân 0,500 g chế phẩm, thêm 30 ml acid acetic khan (TT) lắc siêu âm để hòa tan. Chuẩn độ bằng dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ) và xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song làm mẫu trắng trong cùng điều kiện. 1 ml dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 67,68 mg ($C_{17}H_{23}NO_3$)₂. H₂SO₄.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng và ẩm.

Loại thuốc

Thuốc ức chế đối giao cảm.

Chế phẩm

Thuốc nhỏ mắt dạng thuốc nước và thuốc mỡ, thuốc tiêm, viên nén.

THUỐC TIÊM ATROPIN SULFAT

Injectio Atropini sulfatis

Là dung dịch vô khuẩn của atropin sulfat trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng atropin sulfat, ($C_{17}H_{23}NO_3$)₂.H₂SO₄.H₂O, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - aceton - diethylamin* (50 : 40 : 10).

Dung dịch thử: Bốc hơi trên cách thủy một thể tích tương đương 5 mg atropin sulfat, rồi hòa tan cần trong 1 ml *ethanol* 96 % (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch atropin sulfat chuẩn 0,5 % trong *ethanol* 96 % (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, sấy bản mỏng ở 105 °C trong 20 phút, để nguội, phun thuốc thử kali iodobismuthat loãng (TT) và quan sát. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, hình dạng, màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Trong phần định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic atropin sulfat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH

Từ 3,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch chứa natri acetat 0,01 M (TT) và dioctyl natri sulfosuccinat 0,005M (TT) trong *methanol* 60 % (TT), điều chỉnh đến pH 5,5 bằng acid acetic băng (TT).

Đối với chế phẩm có hàm lượng atropin sulfat nhỏ hơn 0,1 %:

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch atropin sulfat chuẩn có nồng độ tương đương với dung dịch thử pha trong nước.

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa atropin sulfat chuẩn và homatropin hydrobromid chuẩn trong pha động, cả hai chất có nồng độ tương đương với dung dịch thử.

Thể tích tiêm: 100 μ l.

Đối với chế phẩm có hàm lượng atropin sulfat bằng hoặc lớn hơn 0,1 %:

Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm bằng nước (nếu cần) để được dung dịch atropin sulfat 0,1 %.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch atropin sulfat chuẩn 0,1 % pha trong nước.

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa atropin sulfat chuẩn 0,1 % và homatropin hydrobromid chuẩn 0,1 % trong pha động.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 257 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, thử nghiệm chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic atropin sulfat và homatropin hydrobromid trên sắc ký đồ không nhỏ hơn 2,5.

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

Tính hàm lượng của atropin sulfat, $(C_{17}H_{23}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn và hàm lượng $(C_{17}H_{23}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$ trong atropin sulfat chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Điều trị đau do co thắt đường tiêu hóa và tiết niệu, ngộ độc phospho hữu cơ.

Hàm lượng thường dùng

0,25 mg/ml; 0,5 mg/ml.

VIÊN NÉN ATROPIN SULFAT

Tabellae Atropini sulfatis

Là viên nén chứa atropin sulfat.

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

Hàm lượng atropin sulfat, $(C_{17}H_{23}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Cân một lượng bột viên tương ứng với 5 mg atropin sulfat, thêm 5 ml nước, lắc kỹ 10 đến 15 phút, lọc. Thêm vào dịch lọc 0,5 ml dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)

và 0,5 ml dung dịch bari clorid 5 % (TT), xuất hiện tủa trắng, không tan trong các acid.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - aceton - diethylamin (50 : 40 : 10).

Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 5 mg atropin sulfat, thêm 10 ml ethanol 96 % (TT), lắc 10 đến 15 phút, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy cho đến khô. Hòa tan cặn thu được trong 1 ml ethanol 96 % (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch atropin sulfat chuẩn 0,5 % trong ethanol 96 % (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra, sấy ở 105 °C trong 20 phút, để nguội và phun thuốc thử kali iodobismuthat loãng (TT). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Lấy 1 viên, thêm 10,0 ml nước, lắc kỹ (hay để siêu âm) cho đến khi viên rã hoàn toàn, ly tâm. Lấy 5,0 ml lớp chất lỏng trong ở trên và tiến hành như mô tả ở mục Định lượng.

Định lượng

Dung dịch lục bromocresol: Hòa tan 0,05 g lục bromocresol (TT) và 1,021 g kali biphtalat (TT) trong 6,0 ml dung dịch natri hydroxyd 0,2 M, thêm nước vừa đủ 100 ml. Lọc, nếu cần.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 5 mg atropin sulfat vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml nước, lắc kỹ 10 đến 15 phút, thêm nước vừa đủ đến vạch. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Dung dịch lọc.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch atropin sulfat chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg/ml.

Cách tiến hành: Lấy 5,0 ml dung dịch thử cho vào bình gạn có chứa sẵn 25,0 ml cloroform (TT), thêm 5,0 ml dung dịch lục bromocresol, chiết trong 2 phút và để yên cho tách lớp. Lấy 5,0 ml dung dịch chuẩn và tiến hành tương tự.

Đo độ hấp thụ của các lớp cloroform thu được ở 420 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là cloroform (TT).

Tính hàm lượng atropin sulfat, $(C_{17}H_{23}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$, trong viên dựa vào độ hấp thụ đo được của mẫu chuẩn, mẫu thử và nồng độ $(C_{17}H_{23}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

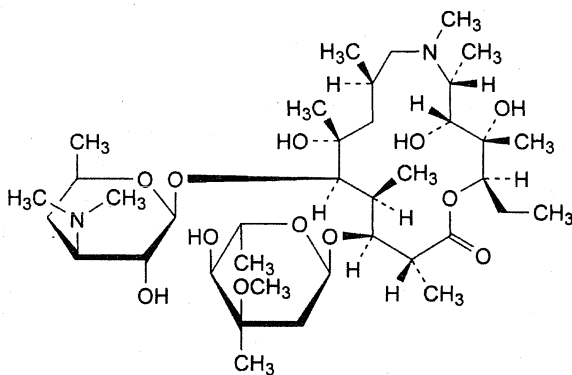
Chống co thắt.

Hàm lượng thường dùng

0,5 mg.

AZITHROMYCIN

Azithromycinum



$C_{38}H_{72}N_2O_{12}$

P.t.l: 749,0

Azithromycin là (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-13-[(2,6-Dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- α -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-2-ethyl-3,4,10-trihydroxy-3,5,6,8,10,12, 14-heptamethyl-11-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy]-1-oxa-6-azacyclopenta-decan-15-on, phải chứa từ 94,0 % đến 102,0 % $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong ethanol và methylen clorid.

Định tính

A. Phương pháp quang phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2). Phổ hồng ngoại của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của azithromycin chuẩn.

Nếu so sánh phổ có sự sai khác, chuẩn bị dung dịch thử và dung dịch chuẩn trong *methylen clorid* (TT) có nồng độ 9,0 % và tiến hành đo phổ.

B. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử ở phần định lượng phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *ethanol* (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

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

pH

Từ 9,0 đến 11,0 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 25,0 ml *methanol* (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với *nước không có carbon dioxyl* (TT).

Góc quay cực riêng

Từ -45° đến -49° tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động: Dung dịch có chứa *dikali hydrophosphat* 3,484% đã được điều chỉnh pH đến 6,5 bằng *acid phosphoric* - *acetonitril* - *nước* (10 : 35 : 55).

Dung môi pha mẫu: *Acetonitril* - *nước* (4 : 6).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 20,0 ml với dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg azithromycin chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

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

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg azithromycin chuẩn và 5,0 mg tạp chất chuẩn A của azithromycin trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 2 mg tạp chất chuẩn B của azithromycin trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Dung dịch này dùng để xác định thời gian lưu của pic tạp chất B.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *end-capped polar-embedded octadecylsilyl amorphous organosilica polymer* (5 μ m). Duy trì nhiệt độ cột ở 70 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 100 μ l.

Cách tiến hành: Tiêm lần lượt các dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (2), (3) và (4), tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian rửa giải bằng 4,5 lần thời gian lưu của azithromycin.

Thời gian lưu tương đối của các tạp chất so với azithromycin (thời gian lưu khoảng 26 phút): tạp chất D khoảng 0,37; tạp chất J khoảng 0,39; tạp chất A khoảng 0,42; tạp chất I khoảng 0,5; tạp chất C khoảng 0,65; tạp chất K khoảng 0,9; tạp chất F khoảng 1,6; tạp chất B khoảng 1,7 và tạp chất G khoảng 2,8.

Độ thích hợp hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của azithromycin ít nhất phải bằng 7,0.

Yêu cầu: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), diện tích pic của tạp chất B không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu

(2) (2,0 %). Diện tích pic của các tạp chất khác không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %). Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (5,0 %).

Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 6-demethylazithromycin.

Tạp chất B: 3-deoxyazithromycin (azithromycin B).

Tạp chất C: 3'-O-demethylazithromycin (azithromycin C)

Tạp chất D: 14-demethyl-14-(hydroxymethyl)azithromycin (azithromycin F).

Tạp chất E: 3'-(*N,N*-didemethyl)azithromycin (aminoazithromycin).

Tạp chất F: 3'-*N*-demethyl-3'-*N*-formylazithromycin.

Tạp chất G: 3'-*N*-demethyl-3'-*N*-[(4-methylphenyl)sulphonyl]azithromycin.

Tạp chất H: 3'-de(dimethylamino)-3',4'-didehydroazithromycin.

Tạp chất I: 3'-*N*-demethylazithromycin.

Tạp chất J: decladinosylazithromycin.

Tạp chất K:

(2*S*,4'*R*,4*aR*,5'*S*,6'*S*,7*R*,8*S*,9*R*,10*R*,13*R*,15*R*,16*R*,17*S*,17*aS*)-7-ethyl-5',8,9,15-tetrahydroxy-4'-methoxy-4',6',8,10,11,13,15,17-octamethyl-16-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy]-octadecahydro-5*H*-spiro[1,3-dioxino[4,5-*m*][1,6]oxazacyclopentadecin-2,2'-[2*H*]pyran]-5-on (azithromycin E).

Kim loại nặng

Không được quá 25 phần triệu (Phụ lục 9.4.8)

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *nước* - *ethanol* (15 : 85), pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 2. Pha loãng *dung dịch* chỉ mẫu 100 phần triệu (TT) với hỗn hợp *nước* - *ethanol* (15 : 85) để thu được dung dịch chỉ mẫu 2,5 phần triệu. Dùng dung dịch chỉ mẫu 2,5 phần triệu để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Từ 1,8 % đến 6,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,20 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3) với điều kiện sắc ký và chuẩn bị các dung dịch như ở phần thử tạp chất liên quan.

Thể tích tiêm: 20 μl.

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

Tính hàm lượng của azithromycin ($C_{38}H_{72}N_2O_{12}$) dựa vào diện tích hoặc chiều cao pic đáp ứng.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Nang, viên nén, hỗn dịch uống.

NANG AZITHROMYCIN

Capsulae Azithromycini

Là nang cứng chứa azithromycin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với hàm lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng, không méo mó, bột thuốc bên trong đồng nhất.

Định tính

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: Dung dịch đệm phosphat pH 6,0, 900 ml.

Chuẩn bị dung dịch đệm phosphat pH 6,0: Pha dung dịch *dinatri hydrophosphat* (TT) 0,1 M và điều chỉnh tới pH $6,0 \pm 0,1$ bằng *acid hydrocloric đậm đặc* (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc qua giấy lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc thu được với môi trường hòa tan để thu được dung dịch thử có nồng độ azithromycin khoảng 50 μg/ml.

Cân chính xác một lượng bột thuốc trong nang của 20 nang đã nghiền mịn, tương ứng với khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và lấy 1 vỏ nang rỗng vào bình định mức 1000 ml, thêm *ethanol* (TT) (theo tỷ lệ: 1 ml ethanol cho 2 mg azithromycin), lắc để hòa tan. Pha loãng bằng môi trường hòa tan đến định mức, lắc trong 30 phút hoặc lắc siêu âm 10 phút, lọc và bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng một thể tích chính xác của dịch lọc bằng môi trường hòa tan để thu được dung dịch chuẩn có nồng độ azithromycin khoảng 50 μg/ml (tính theo hàm lượng azithromycin định lượng được trong chế phẩm).

Lấy chính xác 5,0 ml mỗi dung dịch chuẩn và dung dịch thử vào 2 ống nghiệm riêng rẽ, thêm chính xác 5,0 ml *dung dịch acid sulfuric 75 %* (tt/tt) vào mỗi ống, lắc đều. Để yên trong 30 phút, sau đó làm nguội về nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 482 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là 5,0 ml môi trường hòa tan được tiến hành trong cùng điều kiện với dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Nước

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,3 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp *methanol - nước - amoniac đậm đặc* (80 : 19,9 : 0,1).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng azithromycin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ azithromycin khoảng 1,0 mg trong 1 ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg azithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động và lắc siêu âm 15 phút. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

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

Tính hàm lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic của azithromycin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ trong azithromycin chuẩn.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg; 500 mg.

THUỐC BỘT AZITHROMYCIN

Pulveres Azithromycini

Là thuốc bột chứa azithromycin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc bột” (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột khô toi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính

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

Nước

Không được quá 1,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,5 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn, dung dịch thử, điều kiện sắc ký, cách tiến hành thực hiện như mô tả ở mục Định lượng trong chuyên luận “Nang azithromycin”, thay bột thuốc trong nang bằng bột thuốc đã dùng trong phép thử Độ đồng đều khối lượng.

Bảo quản

Trong gói giấy nhôm hoặc polyethylen kín.

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

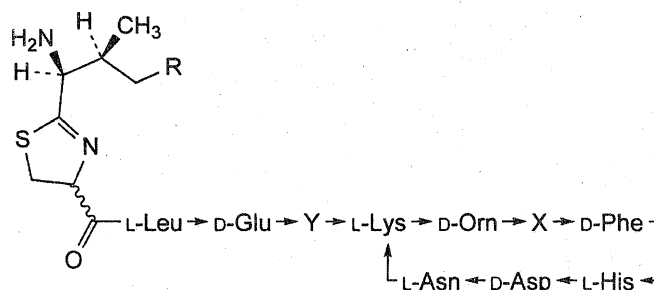
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

125 mg; 250 mg.

BACITRACIN

Bacitracinum



Tên	Công thức	X	Y	R
Bacitracin A	$C_{66}H_{103}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Ile	CH ₃
Bacitracin B1	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Ile	H
Bacitracin B2	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Val	L-Ile	CH ₃
Bacitracin B3	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Val	CH ₃

Bacitracin là hỗn hợp các polypeptid kháng khuẩn được tạo ra bởi một số loài *Bacillus licheniformis* hoặc *Bacillus subtilis*, thành phần chủ yếu là bacitracin A, B₁, B₂ và B₃. Phải chứa ít nhất 60 IU/mg (tính theo chế phẩm đã làm khô).

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng. Hút ẩm. Dễ tan trong nước và trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C.

Nhóm II: A, C.

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

Bản mỏng: Silica gel.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - butanol (1 : 2 : 4).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (TT) và pha loãng thành 1,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg bacitracin kẽm chuẩn trong dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (TT) và pha loãng thành 1,0 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký đồ cho đến khi dung môi đi được một khoảng bằng nửa chiều dài bản mỏng. Sấy khô bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C. Phun lên bản mỏng dung dịch ninhydrin (TT) và sấy ở 110 °C trong 5 phút. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí, kích thước và màu sắc tương tự các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu phép thử Thành phần cấu trúc.

C. Nung 0,2 g chế phẩm. Cẩn còn lại không đáng kể, nó không có màu vàng ở nhiệt độ cao. Để nguội. Hòa tan cẩn trọng 0,1 ml dung dịch acid hydrochloric loãng (TT). Thêm 5 ml nước và 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd đậm đặc (TT). Không tạo tủa trắng.

Độ trong của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT), pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2).

pH (Phụ lục 5.9)

Từ 6,0 đến 7,0 (dùng dung dịch S để thử).

Thành phần cấu trúc

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Dùng phương pháp chuẩn hóa diện tích pic. Điều chế các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động: Lấy 520 thể tích methanol (TT), 40 thể tích acetonitril (TT) và 300 thể tích nước cho vào 100 thể tích dung dịch dikali hydrophosphat 3,48 % đã điều

chỉnh pH tới 6,0 bằng dung dịch kali dihydrophosphat 2,72 %.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 50,0 ml pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Lắc 20,0 mg bacitracin kẽm chuẩn trong nước. Thêm 0,2 ml dung dịch acid hydrochloric loãng (TT) và pha loãng bằng nước thành 10,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử với pha động thành 100,0 ml.

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

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 25,0 ml dung dịch Trilon B 4,0 % đã được điều chỉnh tới pH 7,0 bằng dung dịch natri hydroxyd loãng (TT). Đun trong nồi cách thủy đang sôi 30 phút. Để nguội đến nhiệt độ phòng.

Dung dịch mẫu trắng: Dung dịch Trilon B 4,0 % đã được điều chỉnh đến pH 7,0 bằng dung dịch natri hydroxyd loãng (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột (25 cm × 4,6 mm), chất nhồi end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 µm).

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

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

Thể tích tiêm: 100 µl.

Thời gian chạy sắc ký: Gấp 3 lần thời gian lưu của bacitracin A.

Cách tiến hành:

Tiêm mẫu trắng, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và (3).

Thời gian lưu tương đối tính theo bacitracin A (thời gian lưu từ 15 phút đến 25 phút): bacitracin B₁ khoảng 0,6; bacitracin B₃ khoảng 0,8; tạp chất E khoảng 2,5.

Nếu cần, điều chỉnh thành phần pha động bằng cách thay đổi thể tích dung môi hữu cơ nhưng vẫn giữ nguyên tỷ lệ methanol và acetonitril.

Tính thích hợp của hệ thống:

Tỷ số đỉnh - hõm (peak-valley) tối thiểu bằng 1,2 khi H₀ = chiều cao trên đường nền của pic do bacitracin B₁ và H_v = chiều cao trên đường nền của điểm thấp nhất của đường cong tách pic này khỏi pic của bacitracin B₂ trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Giới hạn: Bacitracin A tối thiểu 40,0 %; tổng bacitracin A, B₁, B₂ và B₃ tối thiểu 70,0 %.

Bỏ qua các pic tương ứng với các pic của dung môi mẫu trắng và bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng diện tích pic của bacitracin A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).

Các peptid liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3) như mô tả trong phép thử "Thành phần cấu trúc".

Giới hạn: Tổng diện tích tất cả các pic xuất hiện trước pic bacitracin B₁, không được lớn hơn 20,0 %.

Tạp chất E

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3) như mô tả trong mục Thành phần cấu trúc.

Detector quang phổ đặt ở bước sóng 300 nm đối với dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất E. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2) và (4).

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, pic của tạp chất E không quá 1,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (6,0 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 60 °C, phospho pentoxyd, áp suất không quá 0,1 kPa, 3 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm để xác định.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định để điều chế thuốc nhỏ mắt mà không hấp tiệt trùng khi pha chế thì phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,8 IU/mg (Phụ lục 13.2) nếu định dùng chế phẩm pha thuốc nhỏ mắt mà không tiến hành loại trừ nội độc tố khi pha chế.

Định lượng

Tiến hành định lượng kháng sinh bằng phương pháp vi sinh vật (Phụ lục 13.9). Dùng bacitracin kèm chuẩn làm chất đối chiếu.

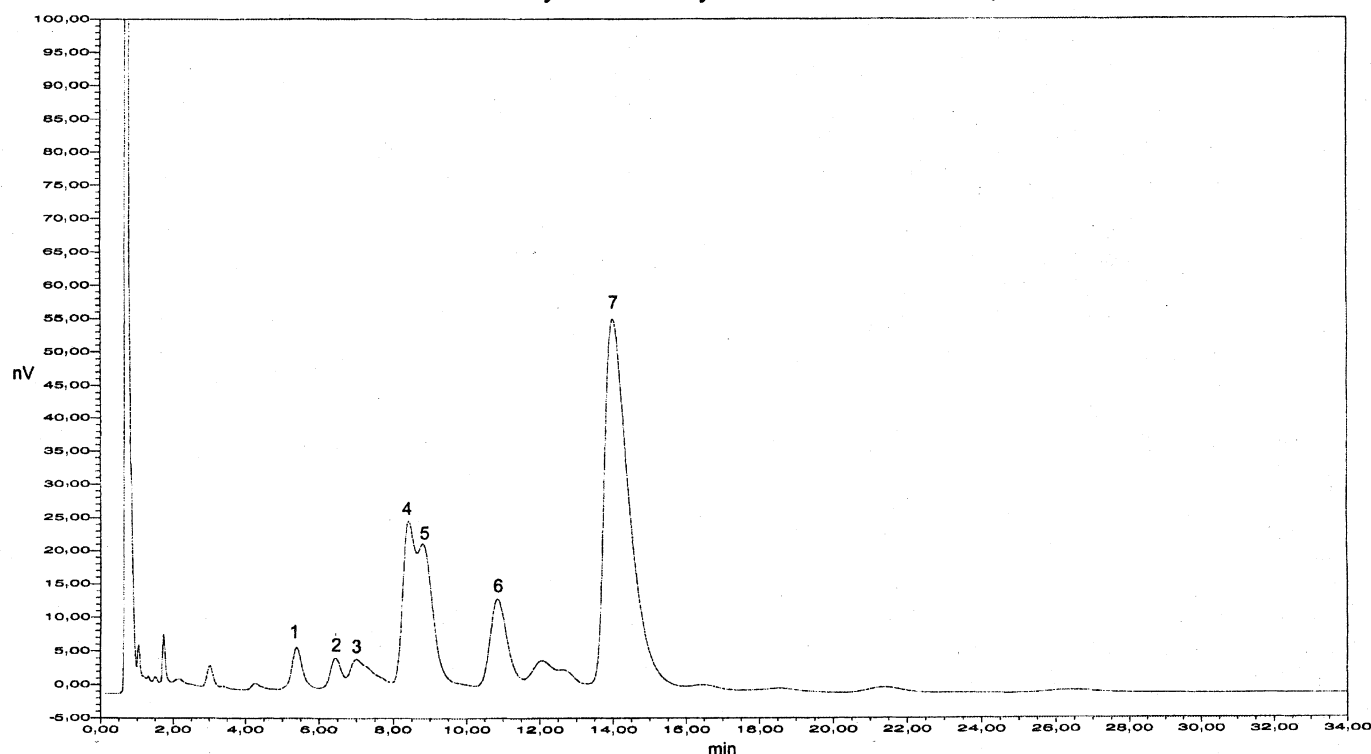
Bảo quản

Đựng trong bao bì kín, để ở 2 °C đến 8 °C. Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong bao bì kín, vô khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh.

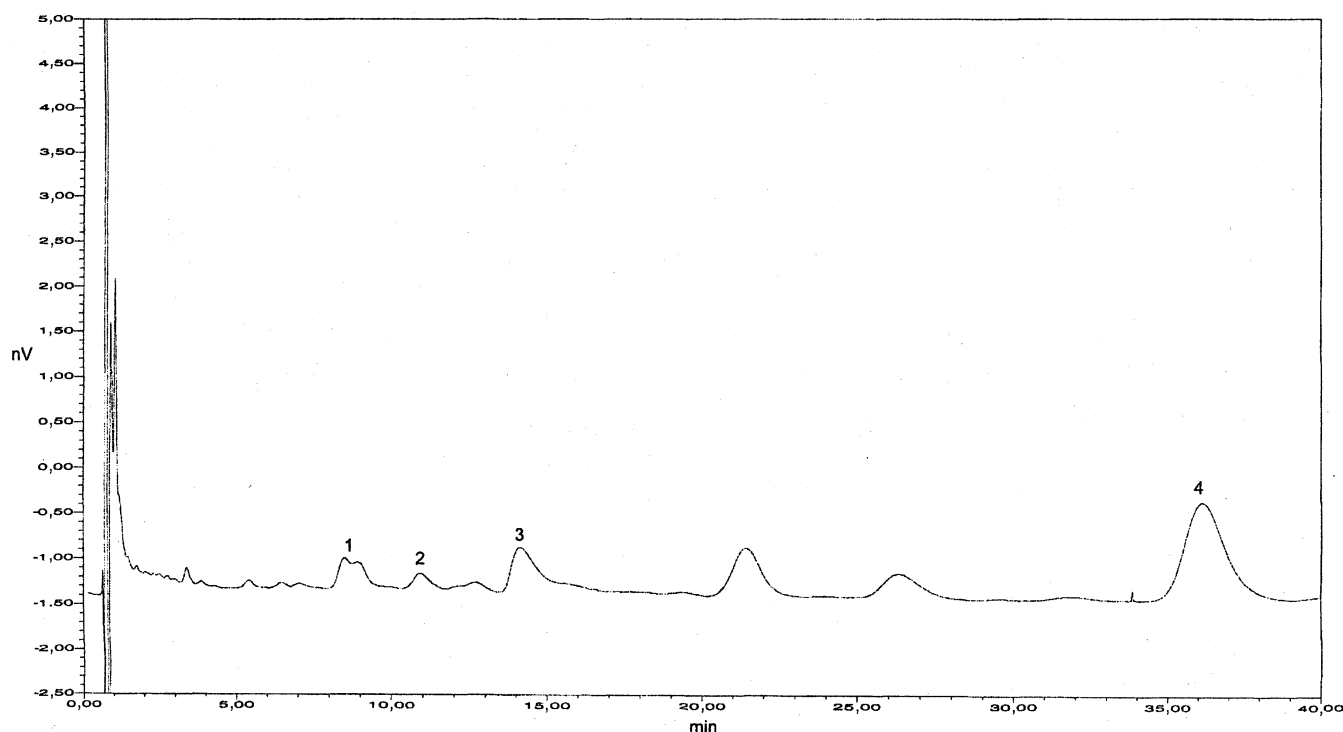
Sau đây là các sắc ký đồ có tính chất minh họa.



1. Tạp chất A
2. Tạp chất B
3. Tạp chất C
4. Bacitracin B₁

5. Bacitracin B₂
6. Bacitracin B₃
7. Bacitracin A

Sắc ký đồ của dung dịch thử trong phép thử Thành phần của bacitracin đo ở 254 nm.



1. Bacitracin B₁
2. Bacitracin B₃

3. Bacitracin A
4. Tạp chất E

Sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) khi thử tạp chất E trong bacitracin, đo ở 300 nm.

Ghi chú:

Tạp chất A: Bacitracin C₁;
Tạp chất B: Bacitracin C₂;
Tạp chất C: Bacitracin C₃;
Tạp chất D: Bacitracin E;
Tạp chất E: bacitracin F;
Tạp chất F: Bacitracin H₁;

Tạp chất G: Bacitracin H₂;
Tạp chất H: Bacitracin H₃;
Tạp chất I: Bacitracin I₁;
Tạp chất J: Bacitracin I₂;
Tạp chất K: Bacitracin I₃.

BARI SULFAT

Barii sulfas

BaSO₄

P.t.l: 233,4

Tính chất

Bột trắng mịn, nặng, không lẫn sạn, không mùi. Thực tế không tan trong nước và các dung môi hữu cơ, rất khó tan trong các dung dịch acid và hydroxyd kiềm.

Định tính

A. Đun sôi 0,2 g chế phẩm với 5 ml *dung dịch natri carbonat 50 %* trong 5 phút. Thêm 10 ml nước vào hỗn hợp và lọc. Acid hóa dịch lọc bằng *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, thêm tiếp vài giọt *dung dịch bari clorid 5 % (TT)* sẽ có tủa trắng xuất hiện.

B. Rửa cặn còn lại trên phễu ở phép thử A 3 lần, mỗi lần với một ít nước. Hòa cặn với 5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và lọc, thêm vào dịch lọc vài giọt *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, tủa trắng được

tạo thành. Tủa này không tan trong *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.

Giới hạn acid - kiềm

Đun trên cách thủy 5,0 g chế phẩm với 20 ml nước không có carbon dioxyd (TT) trong 5 phút và lọc. Thêm 2 giọt *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 10 ml dung dịch lọc. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CD)* hoặc 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CD)*.

Muối bari hòa tan

Dung dịch S: Đun sôi 20,0 g chế phẩm với một hỗn hợp gồm 40 ml nước và 60 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* trong 5 phút, lọc và pha loãng dịch lọc đã để nguội thành 100 ml bằng nước, trộn đều.

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*. Sau 1 giờ dung dịch này không

được đục hơn hỗn hợp gồm 10 ml dung dịch S và 1 ml nước.

Kim loại nặng

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

Pha loãng 7,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng nước. Lấy 12 ml dung dịch này để thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Chất tan trong acid

Không được quá 0,3 %.

Bốc hơi trên cách thủy 25 ml dung dịch S và sấy cạn ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cặn sau khi sấy khô không được nhiều hơn 15 mg.

Phosphat

Không được quá 50 phần triệu.

Thêm một hỗn hợp gồm 3 ml *dung dịch acid nitric 2 N (TT)* và 7 ml nước vào 1,0 g chế phẩm. Đun trên cách thủy 5 phút, lọc và pha loãng dịch lọc với nước thành 10 ml. Thêm 5 ml *thuốc thử molybdovanadic (TT)* và để yên 5 phút. Dung dịch thử không được có màu vàng đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu, tiến hành cùng lúc, trong cùng một điều kiện trên, dùng 10 ml *dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu (TT)*.

Arsen

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Trong bình Kjeldahl nhỏ, lắc 0,5 g chế phẩm với 2 ml *acid nitric đậm đặc (TT)* và 30 ml nước. Cho vào cổ bình một phễu thủy tinh nhỏ, đặt bình ở vị trí nghiêng và đun trên cách thủy trong 2 giờ. Để nguội và thêm nước vào cho bằng mức thể tích ban đầu. Lọc, thu dịch lọc, rửa cặn 3 lần bằng cách gạn, mỗi lần bằng 5 ml nước. Gộp chung dịch lọc và nước rửa, thêm 1 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)*, bốc hơi đến khô trên cách thủy và đun nóng đến khi khói trắng bay hết. Hòa tan cặn thu được trong 10 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, thêm 10 ml nước và tiến hành thử theo phương pháp A.

Hợp chất sulfur dễ bị oxy hóa

Lắc 1,0 g chế phẩm với 5 ml nước trong 30 giây và lọc. Thêm vào dịch lọc 0,1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, thêm 0,1 g *kali iodid (TT)* và lắc cho tan, thêm tiếp 1,0 ml *dung dịch kali iodat 0,36 % mới pha* và 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, lắc mạnh. Dung dịch thử phải có màu đậm hơn dung dịch đối chiếu pha song song, trong cùng điều kiện như trên nhưng không có dung dịch kali iodat.

Độ lắng đọng

Cho 5,0 g chế phẩm vào ống đong có dung tích 50 ml có chia 50 vạch, tương ứng với độ cao 14 cm kể từ đáy. Thêm nước vừa đủ 50 ml. Lắc mạnh hỗn hợp 5 phút và để yên trong 15 phút. Chất thử nghiệm không được lắng xuống thấp hơn vạch chia ở mức 15 ml.

Mất khối lượng sau khi nung

Không được quá 2,0 %.

Nung 1,000 g chế phẩm ở 600 °C đến khối lượng không đổi.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín.

Loại thuốc

Chất cản quang, dùng trong X quang chẩn đoán.

Chế phẩm

Bari sulfat pha hỗn dịch uống.

BARI SULFAT PHA HỖN DỊCH

Barii sulfas pro suspensio

Bari sulfat pha hỗn dịch là hỗn hợp khô của bari sulfat với chất phân tán thích hợp, có thể chứa các chất thơm và các chất bảo quản, kháng khuẩn thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc bột” (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng bari sulfat, BaSO₄, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột mịn, hay nhuộm màu trắng.

Định tính

Đốt, rồi nung 1 g chế phẩm tới khối lượng không đổi. Lấy 0,2 g cặn thu được, tiến hành thử như mô tả ở mục Định tính trong chuyên luận “Bari sulfat”.

pH

Từ 3,5 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).

Dùng hỗn dịch chế phẩm trong nước có nồng độ bari sulfat 60 % (kl/kl) hay thấp hơn, như nồng độ dự kiến sử dụng để thử.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1 g; 105 °C; 4 h)

Định lượng

Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 0,6 g bari sulfat vào chén platin (bạch kim), thêm 5 g *natri carbonat khan (TT)* và 5 g *kali carbonat (TT)*, trộn đều. Nung tới 1000 °C và duy trì ở nhiệt độ này 15 phút. Để nguội, dùng 150 ml nước chuyển cặn sang cốc dung tích 200 ml. Rửa chén với 2 ml *dung dịch acid acetic 6 M (TT)*, gộp nước rửa vào hỗn dịch trong cốc. Làm lạnh trong nước đá, gạn bỏ lớp dịch ở trên, chuyển toàn bộ cặn vào giấy lọc. Rửa cặn nhiều lần với *dung dịch natri carbonat 2 %* cho tới khi nước rửa hết sulfat, loại bỏ nước rửa. Thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* vào giấy lọc, dùng nước chuyển toàn bộ cặn vào cốc chứa, thêm 5 ml *acid hydrocloric (TT)* và pha loãng thành

100 ml với nước. Thêm 10 ml *dung dịch amoni acetat 40 % (TT)*, 25 ml *dung dịch kali dicromat 10 %* và 10 g *ure (TT)*. Đậy cốc và để trong tủ sấy ở nhiệt độ 80 °C đến 85 °C trong 16 giờ. Lọc *dung dịch* khi còn đang nóng qua phễu xấp thủy tinh số 4. Đầu tiên rửa cặn với *dung dịch kali dicromat 0,5 %*, cuối cùng với 2 ml nước. Sấy cặn thu được ở 105 °C tới khối lượng không đổi.

1 g cặn tương ứng với 0,9213 g BaSO₄.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chất cản quang (không phối hợp) đường tiêu hóa.

BẠC NITRAT

Argenti nitras

AgNO₃

P.t.l: 169,9

Bạc nitrat phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % AgNO₃.

Tính chất

Tinh thể trong suốt không màu hoặc bột kết tinh màu trắng. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml nước. Thêm 3 giọt *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* sẽ có tủa trắng lớn nhón, tủa này không tan trong *dung dịch acid nitric 16 % (TT)*, nhưng tan trong *dung dịch amoniac loãng (TT)*.

B. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 2 ml nước, thêm 2 ml *acid sulfuric (TT)*. Lắc đều và để nguội. Cho cẩn thận dọc theo thành ống nghiệm 1 ml *dung dịch sắt (II) sulfat 8 %*. Ở vùng tiếp giáp giữa hai lớp có một vòng màu nâu.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

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

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 2 ml *dung dịch S*. Thêm 0,1 ml *dung dịch lục bromocresol (TT)*. *Dung dịch* phải có màu xanh.

Lấy 2 ml *dung dịch S*. Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)*. *Dung dịch* phải có màu vàng.

Các muối lạ

Không được quá 0,3 %.

Thêm 7,5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* vào 30 ml *dung dịch S*. Lắc mạnh. Đun nóng trên nồi cách thủy 5 phút. Lọc. Bốc hơi 20 ml dịch lọc trên nồi cách thủy đến khô. Sấy cặn ở 100 °C đến 105 °C tới khối lượng không đổi. Cặn thu được không quá 2 mg.

Nhôm, bismuth, đồng và chì

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 4 ml *dung dịch amoniac đậm đặc (TT)* và 6 ml nước. *Dung dịch* thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Định lượng

Hòa tan khoảng 0,300 g chế phẩm trong 50 ml nước. Thêm 2 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 1 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch amoni sulfocyanid 0,1 N (CĐ)* đến màu vàng hơi đỏ.

1 ml *dung dịch amoni sulfocyanid 0,1 N (CĐ)* tương đương với 16,99 mg AgNO₃.

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín, phi kim loại, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Khử trùng.

Chế phẩm

Dung dịch bạc nitrat vô trùng.

BẠC VITELINAT

Argentum vitellanicum

Argyrol

Bạc vitelinat là hợp chất của bạc với vitelin (phospho-protein), phải chứa ít nhất 20,0 % Ag.

Tính chất

Mảnh hoặc phiến màu nâu thẫm hay lục đen bóng, dễ hỏng ngoài không khí, dễ hút ẩm. Tan trong nước và trong glycerin, tan chậm và hoàn toàn trong ethanol 70 %, không tan trong ethanol 96 % và trong ether.

Định tính

A. Nung khoảng 0,5 g chế phẩm, hòa tan cặn trong 5 ml *dung dịch acid nitric 16 % (TT)*, thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* sẽ có tủa trắng lớn nhón, tủa tan trong *amoniac (TT)*.

B. Đem đốt, chế phẩm sẽ cháy thành than và tỏa ra mùi khét của sừng hay lông cháy.

C. *Dung dịch* chế phẩm trong *dung dịch natri clorid* đẳng trương vững bền (khác với protargol).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 10 ml nước. *Dung dịch* thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu đỏ nâu. Nhìn xuyên qua, *dung dịch* có hiện tượng lưỡng sắc nhẹ. Nhìn ở ánh sáng phản chiếu, *dung dịch* có màu lục. Để yên 2 giờ, *dung dịch* không được có cặn.

Giới hạn kiềm

Không được quá 3,2 % biểu thị bằng natri hydroxyd.

Cân chính xác khoảng 1,000 g chế phẩm trong chén sứ, đốt rồi nung. Sau khi để nguội, chiết cẩn nhiều lần, mỗi lần 10 ml nước sôi cho đến khi dịch chiết không còn màu hồng với dung dịch phenolphthalein (TT). Gộp dịch chiết, thêm 2 giọt đến 3 giọt dung dịch phenolphthalein (TT), chuẩn độ bằng dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ) đến khi mất màu hồng.

1 ml dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ) tương đương với 4,0 mg NaOH.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 10 ml nước trong một bình nón dung tích 200 ml đến 250 ml. Thêm từ từ đến hết 10 ml dung dịch acid sulfuric 1 N. Để nguội. Thêm 2 g kali permanganat (TT) đã tán nhỏ, cho từ từ từng ít một và khuấy luôn tay. Đun sôi nhẹ hỗn hợp trong khoảng 5 phút. Thêm từ từ từng giọt dung dịch sắt (II) sulfat (TT) cho đến khi dung dịch chuyển sang màu vàng nhạt. Thêm 50 ml nước, 5 ml dung dịch acid nitric 25 % (TT). Để nguội. Thêm 1 ml dung dịch sắt (III) amoni sulfat (TT) và chuẩn độ bằng dung dịch amoni sulfocyanid 0,1 N (CĐ) tới màu đỏ.

1 ml dung dịch amoni sulfocyanid 0,1 N (CĐ) tương đương với 10,79 mg Ag.

Bảo quản

Trong lọ thủy tinh khô, có màu, nút kín, tránh ánh sáng, tránh ẩm.

Tương kỵ

Alcaloid, adrenalin, tanin.

BENZALKONIUM CLORID

Benzalkonii chloridum

Benzalkonium clorid là hỗn hợp các muối alkylbenzyltrimethylamoni clorid; mạch alkyl có từ 8 đến 18 carbon. Chế phẩm phải chứa từ 95,0 % đến 104,0 % các muối alkylbenzyltrimethylamoni clorid, tính theo $C_{22}H_{40}ClN$ (p.t.l: 354,0) đối với chế phẩm khan.

Tính chất

Bột trắng hoặc trắng hơi vàng hoặc các mảnh trắng hơi vàng như gelatin, hút ẩm, sờ giống xà phòng. Rất dễ tan trong nước và ethanol. Khi đun nóng, tạo thành một khối nóng chảy trong. Dung dịch trong nước, lắng lên, tạo rất nhiều bọt.

Định tính

A. Hòa tan 80 mg chế phẩm trong nước và pha loãng bằng nước thành 100 ml. Phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch, đo từ 220 nm đến 350 nm (Phụ lục 4.1) có 3 cực đại hấp thụ ở 257 nm; 263 nm và 269 nm và một vai ở khoảng 250 nm.

B. Lấy 2 ml dung dịch S (xem dung dịch S ở dưới), thêm 0,1 ml acid acetic băng (TT) và thêm từng giọt

một cho đến hết 1 ml dung dịch natri tetraphenylborat 1 % (TT). Tạo tủa trắng. Lọc. Hòa tan tủa trong một hỗn hợp gồm 1 ml acetone (TT) và 5 ml ethanol 96 % (TT) bằng cách đun nóng không quá 70 °C. Thêm nước từng giọt một vào dung dịch đang nóng cho đến khi dung dịch hơi đục. Đun nóng nhẹ cho đến khi dung dịch trong và để nguội. Tạo tủa tinh thể trắng. Lọc. Rửa các tinh thể này 3 lần, mỗi lần 10 ml nước và làm khô trong chân không trên diphospho pentoxyd (TT) hoặc silica gel khan (TT) ở nhiệt độ không quá 50 °C. Các tinh thể này nóng chảy ở 127 °C đến 133 °C (Phụ lục 6.7).

C. Lấy 5 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT), thêm 0,1 ml dung dịch xanh bromophenol (TT) và 5 ml cloroform (TT). Lắc. Lớp cloroform không màu. Thêm 0,1 ml dung dịch S và lắc. Lớp cloroform có màu xanh.

D. Lấy 2 ml dung dịch S, thêm 1 ml dung dịch acid nitric 12,5 % (TT). Tạo tủa trắng, thêm 5 ml ethanol 96 % (TT), tủa tan. Dung dịch này cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 50 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml dung dịch đỏ tía bromocresol (TT). Để làm thay đổi màu của chỉ thị, không được dùng quá 0,1 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (CĐ) hoặc 0,1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ).

Amin và các muối amin

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 20 ml hỗn hợp gồm 3 thể tích dung dịch acid hydrochloric 1 N và 97 thể tích methanol (TT) bằng cách đun nóng. Thêm 100 ml 2-propanol (TT). Cho khí nitơ sục chậm qua dung dịch. Thêm từ từ 12,0 ml dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CĐ) và ghi đường cong chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Nếu đường cong chuẩn độ có hai điểm uốn thì thể tích dung dịch chuẩn độ thêm vào giữa hai điểm uốn không được lớn hơn 5,0 ml. Nếu đường cong chuẩn độ không có điểm uốn nào, có nghĩa chế phẩm không đạt yêu cầu của phép thử. Nếu đường cong chuẩn độ có một điểm uốn, làm lại phép thử, nhưng thêm 3,0 ml dung dịch dimethyldecylamin 2,5 % trong 2-propanol trước khi chuẩn độ. Nếu sau khi thêm 12,0 ml dung dịch chuẩn độ mà đường cong chuẩn độ chỉ có một điểm uốn thì chế phẩm không đạt yêu cầu của phép thử.

Nước

Không được quá 10 % (Phụ lục 10.3).

Lấy 0,300 g chế phẩm để thử.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9).

Lấy 1,0 g chế phẩm để xác định.

Định lượng

Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong nước và pha loãng bằng nước thành 100,0 ml. Lấy 25 ml dung dịch này cho vào một bình gạn, thêm 25 ml *cloroform* (TT), 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* và 10,0 ml *dung dịch kali iodid 5,0 %* vừa mới pha. Lắc kỹ. Để yên phân lớp, bỏ lớp *cloroform*. Lắc lớp nước với *cloroform* (TT) 3 lần, mỗi lần 10 ml. Loại bỏ các lớp *cloroform*. Cho vào lớp nước 40 ml *acid hydrocloric* (TT). Để nguội và chuẩn độ bằng *dung dịch kali iodat 0,05 M* (CD) cho đến khi màu nâu đậm gần như biến mất. Thêm 2 ml *cloroform* (TT) và tiếp tục vừa lắc mạnh vừa chuẩn độ cho đến khi lớp *cloroform* không có thay đổi màu. Tiến hành chuẩn độ mẫu trắng [hỗn hợp gồm 10,0 ml *dung dịch kali iodid 5,0 %* vừa mới pha, 20 ml nước và 40 ml *acid hydrocloric* (TT)].

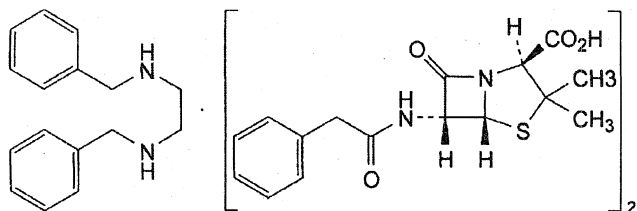
1 ml *dung dịch kali iodat 0,05 M* (CD) tương đương với 35,4 mg $C_{22}H_{40}ClN$.

Loại thuốc

Tẩy rửa sát trùng.

BENZATHIN BENZYL PENICILIN

Benzathinum benzylpenicillinum



$(C_{16}H_{18}N_2O_4S)_2C_{16}H_{20}N_2$

P.t.l: 909,0

Benzathin benzylpenicilin là phức hợp của (1:2) N,N'-dibenzylethan-1,2-diamin với acid (2S,5R,6R)-3,3-dimethyl-7-oxo-6-[(phenylacetyl)amino]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $(C_{16}H_{18}N_2O_4S)_2C_{16}H_{20}N_2$ và từ 24,0 % đến 27,0 % N,N'-dibenzylethylendiamin (benzathin $C_{16}H_{20}N_2$; p.t.l. 240,3) tính theo chế phẩm khan. Chế phẩm có chứa hàm lượng nước thay đổi và có thể chứa các tác nhân phân tán hoặc tác nhân tạo hỗn dịch.

Tính chất

Bột màu trắng.

Rất khó tan trong nước, dễ tan trong dimethylformamid và formamid, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của benzathin benzylpenicilin chuẩn.

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel đã được silan hóa.

Dung môi khai triển: Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % (30 : 70), được điều chỉnh pH đến 7,0 bằng amoniac (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 5 ml *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg benzathin benzylpenicilin chuẩn trong 5 ml *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 μ l các dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, để bản mỏng trong hơi iod đến khi các vết xuất hiện. Kiểm tra dưới ánh sáng tự nhiên, hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, kích thước và màu sắc với hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu cho hai vết tách ra rõ ràng.

C. Cho khoảng 2 mg chế phẩm vào một ống nghiệm có chiều dài 150 mm và đường kính 15 mm. Làm ẩm với 0,05 ml nước và thêm 2 ml *dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric* (TT). Lắc đều trộn đều, dung dịch không màu. Đặt ống nghiệm vào trong cách thủy trong 1 phút, màu nâu đỏ xuất hiện.

D. Thêm vào 0,1 g chế phẩm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT), lắc đều trong 2 phút. Lắc hỗn hợp trên hai lần, mỗi lần với 3 ml *ether* (TT), lấy lớp ether. Gộp các dịch ether, bay hơi đến khô và hòa tan cần trong 1 ml *ethanol 50 %* (TT). Thêm 5 ml *dung dịch acid picric* (TT), đun nóng ở 90 °C trong 5 phút và làm nguội từ từ. Lọc lấy tinh thể thu được, kết tinh lại trong *ethanol 25 %* có chứa 1 % *acid picric* (TT). Nhiệt độ nóng chảy của tinh thể thu được khoảng 214 °C (Phụ lục 6.7).

Giới hạn acid - kiềm

Cân 0,50 g chế phẩm, thêm 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT) và lắc trong 5 phút. Lọc qua phễu lọc xốp. Thêm vào 20 ml dịch lọc 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol* (TT). Dung dịch có màu xanh lá hoặc vàng. Không được dùng quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 M* (CD) để chuyển màu của chỉ thị sang màu xanh da trời.

Tạp chất liên quan

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Các dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng. Dùng máy lắc siêu âm để hòa tan mẫu thử (khoảng 2 phút), tránh để tăng nhiệt độ của mẫu thử.

Pha động A: Hỗn hợp dung dịch kali dihydrophosphat 3,4 % đã được chỉnh pH đến 3,5 bằng acid phosphoric - methanol - nước (10 : 30 : 60).

Pha động B: Hỗn hợp dung dịch kali dihydrophosphat 3,4 % đã được chỉnh pH đến 3,5 bằng acid phosphoric - nước - methanol (10 : 30 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 70,0 mg chế phẩm trong 25 ml methanol (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng dung dịch có chứa kali dihydrophosphat 0,68 % và dinatri hydrophosphat 0,102 %.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 70,0 mg benzathin benzylpenicilin chuẩn trong 25 ml methanol (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng dung dịch có chứa kali dihydrophosphat 0,68 % và dinatri hydro-phosphat 0,102 %.

Dung dịch đối chiếu (2): Hút chính xác 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) cho vào bình định mức dung tích 100,0 ml; thêm pha động A vừa đủ tới vạch.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh là end-capped octadecylsilyl silica gel (5 μm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min với chương trình dung môi:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	75	25
10 - 20	75 → 0	25 → 100
20 - 55	0	100
55 - 70	75	25

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử, các dung dịch đối chiếu, ghi lại sắc ký đồ.

Xác định tính thích hợp của hệ thống bằng cách tiêm dung dịch đối chiếu (1).

Thời gian lưu tương đối so với benzylpenicilin của benzathin khoảng 0,3 đến 0,4 và của tạp chất C (acid benzylpeniciloic benzathid) khoảng 2,4. Điều chỉnh tỷ lệ methanol trong pha động nếu cần thiết.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với tạp chất C không được lớn hơn hai lần tổng diện tích hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).

Bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn tổng diện tích hai pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần tổng diện tích hai pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Nước

Từ 5,0 % đến 8,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không tiến hành tiệt khuẩn nữa thì phải đạt phép thử về độ vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Lắc 20 mg chế phẩm với 20 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT) đã được pha loãng 1 thành 100, lắc kỹ và ly tâm. Lấy dịch trong tiến hành thử (Phụ lục 13.2, phương pháp E). Nội độc tố vi khuẩn phải ít hơn 0,13 IU/ml. Nếu chế phẩm dự định dùng để pha thuốc tiêm mà không tiến hành các biện pháp loại nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu này.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và cột sắc ký giống như phần thử tạp chất liên quan.

Pha động: Hỗn hợp dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - methanol - nước (10 : 35 : 55).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1).

Dựa vào diện tích pic đáp ứng, tính toán hàm lượng của benzathin và benzathin benzylpenicilin. Hàm lượng benzathin benzylpenicilin bằng hàm lượng của benzylpenicilin nhân với hệ số 1,36.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín.

Nếu là nguyên liệu vô khuẩn: Đựng trong đồ bao gói kín, vô khuẩn và tránh sự xâm nhập của vi khuẩn.

Nhãn

Phải quy định rõ thời hạn sử dụng và điều kiện bảo quản.

Ghi rõ tên và hàm lượng của tác nhân phân tán hoặc tác nhân tạo hỗn dịch.

Ghi rõ nếu nguyên liệu vô khuẩn hoặc không có nội độc tố vi khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén và hỗn dịch uống.

BỘT PHA TIÊM BENZATHIN BENZYL PENICILIN

Benzathini benzylpenicillinum pro injectione

Benzathin benzylpenicilin pha tiêm là hỗn hợp vô khuẩn của muối N,N' -dibenzylethylendiamin benzylpenicilin $[(C_{16}H_{18}N_2O_4S)_2.C_{16}H_{20}N_2]$ với lượng thích hợp đệm và chất tạo hỗn dịch.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hoạt lực của chế phẩm không được ít hơn 1180 đơn vị penicilin trong 1 mg, tính theo chế phẩm khan. Mỗi đơn vị đóng gói phải chứa 95,0 % đến 105,0 % so với lượng penicilin ghi trên nhãn, tính theo khối lượng trung bình của bột thuốc trong một đơn vị đóng gói.

Tính chất

Bột kết tinh trắng.

Định tính

A. Cân khoảng 0,2 g chế phẩm, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, lắc kỹ và chiết với 10 ml *ether (TT)*. Bay hơi 3 ml dịch chiết ether đến khô và hòa tan cân thu được trong 1 ml *acid acetic băng (TT)*. Thêm 1 ml *dung dịch kali dicromat 5 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng.

B. Bay hơi phần dịch chiết ether còn lại đến khô. Hòa tan cân thu được trong 1 ml *ethanol 50 % (TT)*. Thêm 5 ml *dung dịch bão hòa acid picric (TT)*, đun nóng ở 90 °C trong 5 phút. Để nguội, xuất hiện các tinh thể. Kết tinh lại bằng *ethanol 25 % (TT)* có chứa một lượng nhỏ *acid picric (TT)*. Điểm chảy của tinh thể thu được ở khoảng 214 °C, kèm theo phân hủy (Phụ lục 6.7).

C. Tiến hành như mô tả trong Phụ lục 8.2, dùng các dung dịch sau:

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm 0,5 % trong *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch benzathin benzylpenicilin chuẩn 0,5 % trong *methanol (TT)*.

Sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có hai vết phù hợp với hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

pH

Từ 5,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Dùng hỗn dịch chế phẩm 0,5 % trong *nước để thử*.

Nước

Từ 5,0 % đến 8,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,2 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Tiến hành thử theo chuyên luận “Phép thử nội độc tố vi khuẩn” (Phụ lục 13.2).

Không quá 0,25 EU trong 1000 IU penicilin.

Thử vô khuẩn

Phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Thử không ít hơn hai đơn vị đóng gói, làm mất hoạt tính riêng biệt với penicilinase.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 60 mg chế phẩm vào bình định mức 100 ml, hòa tan trong hỗn hợp 40 ml *nước* và 25 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Để yên 30 phút, thêm 27,5 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT)*, pha loãng với *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lấy 20,0 ml dung dịch thu được vào bình định lượng iod, thêm 25,0 ml *dung dịch iod 0,02 N (CĐ)*, để yên trong chỗ tối 15 phút. Chuẩn độ iod thừa bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị, cho vào lúc gần kết thúc chuẩn độ. Tiến hành một mẫu trắng bằng cách lắc 12 mg chế phẩm với 10 ml *nước*, thêm 25,0 ml *dung dịch iod 0,02 N (CĐ)* và chuẩn độ ngay lập tức với *dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CĐ)*.

Song song tiến hành định lượng mẫu chuẩn như mô tả ở trên, dùng benzylpenicilin natri chuẩn hay benzylpenicilin kali chuẩn thay thế chế phẩm.

1 mg $(C_{16}H_{18}N_2O_4S)_2.C_{16}H_{20}N_2$ tương ứng với 1309 đơn vị penicilin.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

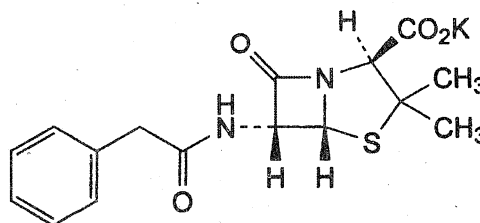
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

300 000 IU; 600 000 IU; 1 200 000 IU.

BENZYL PENICILIN KALI

Benzylpenicillinum kalicum



$C_{16}H_{17}KN_2O_4S$

P.t.l: 372,5

Benzylpenicilin kali là kali (2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-6-[(phenylacetyl)amino]-4-thia-1-azabicyclo-[3.2.0]heptan-2-carboxylat, được sản xuất bằng cách nuôi cấy chủng *Penicillium notatum* hoặc các chủng cùng họ hay điều chế bằng các phương pháp khác; phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{17}KN_2O_4S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, thực tế không tan trong dầu béo và dầu parafin.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm 1: A, D.

Nhóm 2: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của benzylpenicilin kali chuẩn.

B. Tiến hành sắc ký lớp mỏng theo định tính các penicilin (Phụ lục 8.2).

C. Phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).

D. Chế phẩm cho phản ứng (A) của ion kali (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 5,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng

Từ +270° đến +300°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 94,0 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được tại các bước sóng 325 nm, 280 nm và tại cực đại hấp thụ 264 nm, pha loãng dung dịch nếu cần thiết để đo độ hấp thụ tại 264 nm. Độ hấp thụ tại 325 nm và 280 nm không được lớn hơn 0,10 và tại cực đại hấp thụ 264 nm phải từ 0,80 đến 0,88 tính theo dung dịch không pha loãng (1,88 g/l). Kiểm tra độ phân giải của máy quang phổ (Phụ lục 4.1), tỷ lệ các độ hấp thụ ít nhất phải bằng 1,7.

Tạp chất liên quan

Không được quá 1,0 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Dung dịch thử: Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50,0 mg benzylpenicilin natri chuẩn trong nước và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký giống như ở phần Định lượng.

Tiêm dung dịch đối chiếu, tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động giống như phần định lượng. Tiêm dung dịch thử, đặt chương trình pha động sao cho ban đầu rửa giải với pha động đẳng dòng giống như trên; ngay sau khi pic của benzylpenicilin được rửa giải ra khỏi cột tỷ lệ pha động được thay đổi theo chương trình sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 20	70→0	30→100	Gradient tuyến tính
20 - 35	0	100	Đẳng dòng
35 - 50	70	30	Cân bằng cột

Tiêm nước, tiến hành sắc ký giống như với dung dịch thử để thu được sắc ký đồ mẫu trắng. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: diện tích của bất kỳ pic phụ nào trừ các pic tương ứng với mẫu trắng, không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Nội độc tố vi khuẩn

Phải nhỏ hơn 0,16 IU/mg (Phụ lục 13.2; phương pháp đo màu tại điểm dừng). Nếu chế phẩm dùng để pha thuốc tiêm mà không loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đạt yêu cầu này.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat pH 3,5: Dung dịch kali dihydrophosphat 6,8 % đã được điều chỉnh pH đến 3,5 bằng dung dịch có chứa 50,0 % dung dịch acid phosphoric 2 M (TT).

Pha động A: Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - methanol - nước (10 : 30 : 60).

Pha động B: Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - nước - methanol (10 : 40 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg benzylpenicilin natri chuẩn trong nước và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 10 mg benzylpenicilin natri chuẩn và 10 mg acid phenylacetic (TT) trong nước, pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng nước. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột với pha động là hỗn hợp pha động A và pha động B (70 : 30). Tiêm dung dịch phân giải. Độ phân giải giữa hai pic chính ít nhất phải bằng 6,0 (điều chỉnh tỷ lệ giữa pha động A và pha động B, nếu cần thiết) và tỷ số phân bố khối lượng (D_m) của pic thứ hai (benzylpenicilin) phải từ 4,0 đến 6,0. Tiêm dung dịch đối chiếu (2), điều chỉnh hệ thống để thu được tỷ lệ giữa tín hiệu và độ nhiễu ít nhất là 3.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng benzylpenicilin natri dựa vào diện tích pic đáp ứng.

Hàm lượng benzylpenicilin kali bằng hàm lượng benzylpenicilin natri nhân với 1,045.

Bảo quản

Bao bì kín, nhiệt độ không được quá 25 °C. Nếu chế phẩm là vô khuẩn, bảo quản trong bao bì kín và vô khuẩn.

Nhãn

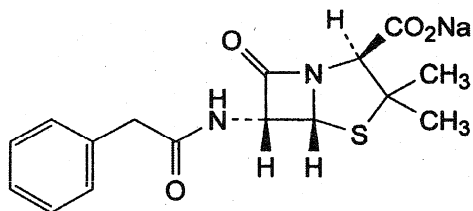
Phải ghi rõ nếu chế phẩm không có nội độc tố vi khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

BENZYLPENICILIN NATRI***Benzylpenicillinum natricum***

$C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$

P.t.l: 356,4

Benzylpenicilin natri là natri (2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-6-[(phenylacetyl)amino]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat, được sản xuất bằng cách nuôi cấy chủng *Penicillium notatum* hoặc các chủng cùng họ hay bằng các phương pháp khác; phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, thực tế không tan trong dầu béo và dầu parafin.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của benzylpenicilin natri chuẩn.

B. Tiến hành sắc ký lớp mỏng theo định tính các penicilin (Phụ lục 8.2).

C. Phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).

D. Chế phẩm cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 5,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng

Từ +285° đến +310°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 90,0 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được tại các bước sóng 325 nm, 280 nm và tại cực đại hấp thụ 264 nm, pha loãng dung dịch nếu cần thiết để đo độ hấp thụ tại 264 nm. Độ hấp thụ tại 325 nm và 280 nm không được lớn hơn 0,10 và tại cực đại hấp thụ 264 nm phải từ 0,80 đến 0,88 tính theo dung dịch không pha loãng (1,80 g/l). Kiểm tra độ phân giải của máy quang phổ (Phụ lục 4.1), tỷ lệ các độ hấp thụ ít nhất phải bằng 1,7.

Tạp chất liên quan

Không được quá 1,0 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch thử: Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50,0 mg benzylpenicilin natri chuẩn trong nước và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký giống như ở phần định lượng.

Tiêm dung dịch đối chiếu, tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động giống như phần định lượng.

Tiêm dung dịch thử, đặt chương trình pha động sao cho ban đầu rửa giải với pha động đẳng dòng giống

như trên; ngay sau khi pic của benzylpenicilin được rửa giải ra khỏi cột, tỷ lệ pha động được thay đổi theo chương trình sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 20	70→0	30→100	Gradient tuyến tính
20 - 35	0	100	Đẳng dòng
35 - 50	70	30	Cân bằng cột

Tiêm nước, tiến hành sắc ký giống như với dung dịch thử để thu được sắc ký đồ mẫu trắng. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: diện tích của bất kỳ pic phụ nào trừ các pic tương ứng với mẫu trắng, không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu.

Acid 2-ethylhexanoic

Không được quá 0,5 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Nội độc tố vi khuẩn

Phải nhỏ hơn 0,16 IU/mg (Phụ lục 13.2; phương pháp đo màu tại điểm dừng). Nếu chế phẩm dùng để pha thuốc tiêm mà không loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đạt yêu cầu này.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat pH 3,5: Dung dịch kali dihydrophosphat 6,8% đã được điều chỉnh pH đến 3,5 bằng dung dịch có chứa 50,0 % dung dịch acid phosphoric 2 M (TT).

Pha động A: Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - methanol - nước (10 : 30 : 60).

Pha động B: Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - nước - methanol (10 : 40 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg benzylpenicilin natri chuẩn trong nước và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 10 mg benzylpenicilin natri chuẩn và 10 mg acid phenylacetic (TT) trong nước, pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng nước. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột với pha động là hỗn hợp pha động A và pha động B (70 : 30). Tiêm dung dịch phân giải. Độ phân giải giữa hai pic chính ít nhất phải bằng 6,0 (điều chỉnh tỷ lệ giữa pha động A và pha động B, nếu cần thiết) và tỷ số phân bố khối lượng (D_m) của pic thứ hai (benzylpenicilin) phải từ 4,0 đến 6,0. Tiêm dung dịch đối chiếu (2), điều chỉnh hệ thống để thu được tỷ lệ giữa tín hiệu và độ nhiễu ít nhất là 3.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng benzylpenicilin natri dựa vào diện tích pic đáp ứng.

Bảo quản

Bao bì kín. Nếu chế phẩm là vô khuẩn, bảo quản trong bao bì vô khuẩn, bảo đảm và kín.

Nhãn

Phải ghi rõ nếu chế phẩm không có nội độc tố vi khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM BENZYL PENICILIN

Benzylpenicillini pro injectione

Bột pha tiêm benzylpenicilin là bột kết tinh vô khuẩn của benzylpenicilin kali hoặc benzylpenicilin natri đóng trong ống thủy tinh hàn kín hoặc lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với “Nước vô khuẩn để tiêm” ngay trước khi dùng.

Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng benzylpenicilin kali, $C_{16}H_{17}N_2KO_4S$, hoặc **benzylpenicilin natri**, $C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$, phải từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Chất

Bột kết tinh trắng, vị hơi đắng, hơi có mùi đặc biệt.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải tương ứng với phổ hồng ngoại của benzylpenicilin kali chuẩn hoặc benzylpenicilin natri chuẩn.

B. Chế phẩm có phản ứng đặc trưng của ion kali hoặc natri (Phụ lục 8.1) và phản ứng của benzylpenicilin (Phụ lục 8.2).

Giới hạn acid - kiềm

Dung dịch 10 % chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) có pH từ 5,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Độ trong và màu sắc dung dịch

Thêm nước vào 5 lọ hoặc ống tiêm (tùy theo cách đóng gói) để tạo dung dịch chứa 60 mg/ml (theo lượng ghi trên nhãn), dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3).

Mất khối lượng do làm khô

Không được lớn hơn 1,0 % (Phụ lục 9.6).

Dùng 1 g chế phẩm, sấy ở 100 °C đến khối lượng không đổi.

Chất gây sốt

Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu về thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4).

Tiêm 1 ml dung dịch có chứa 1,5 mg chế phẩm pha trong nước để pha thuốc tiêm cho 1 kg thử thí nghiệm.

Thử vô khuẩn

Chế phẩm phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Dùng 120 mg chế phẩm, làm mất hoạt tính bằng penicilinase rồi thử theo phương pháp màng lọc.

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Hỗn hợp 10 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat* 6,8 % đã được điều chỉnh tới pH 3,5 với *dung dịch acid phosphoric* 50 % (TT), 30 thể tích *methanol* (TT) và 60 thể tích nước.

Pha động B: Hỗn hợp 10 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat* 6,8 % đã được điều chỉnh tới pH 3,5 với *dung dịch acid phosphoric* 50 % (TT), 50 thể tích *methanol* (TT) và 40 thể tích nước.

Pha động: Hỗn hợp pha động A và pha động B (70 : 30).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa benzylpenicilin natri chuẩn hoặc benzylpenicilin kali chuẩn, nồng độ 0,10 % trong nước.

Dung dịch phân giải: Chứa benzylpenicilin natri chuẩn (hoặc benzylpenicilin kali chuẩn) 0,020 % và acid phenylacetic chuẩn 0,020 % trong nước.

Dung dịch thử: Cân nhanh thuốc trong từng đơn vị chế phẩm của 10 đơn vị chế phẩm (lọ), trộn đều. Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng khoảng 80 mg benzylpenicilin pha trong 20,0 ml nước, lọc. Pha loãng 1 thể tích dịch lọc với nước thành 4 thể tích.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) chứa pha tĩnh C (5 µm) (Hypersil ODS là thích hợp).

Detector hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải, độ phân giải giữa 2 pic chính thu được phải không nhỏ hơn 6,0. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ của pha động A và pha động B để đạt yêu cầu trên.

Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Tính toán hàm lượng benzylpenicilin trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng muối benzylpenicilin để pha dung dịch chuẩn.

Hoạt lực lý thuyết của 1 mg benzylpenicilin natri là 1670 đơn vị.

Hoạt lực lý thuyết của 1 mg benzylpenicilin kali là 1600 đơn vị.

Bảo quản

Đề ở nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C.

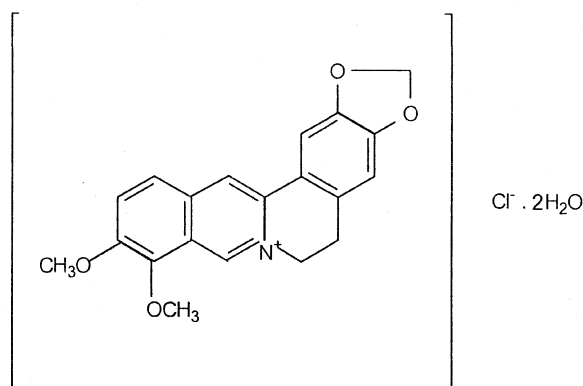
Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

0,125 g; 0,312 g; 0,625 g hoặc

200 000 đơn vị; 500 000 đơn vị và 1 000 000 đơn vị.

BERBERIN CLORID***Berberini chloridum***

$C_{20}H_{18}NO_4Cl \cdot 2H_2O$

P.t.l: 407,9

Berberin clorid là 5,6 dihydro-8,9-dimethoxy-1,3-dioxo-6a-azoniainden(5,6-a) anthracen clorid dihydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{20}H_{18}NO_4Cl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể hay bột kết tinh màu vàng, không mùi, có vị rất đắng. Tan trong nước nóng, khó tan trong ethanol và nước, rất khó tan trong cloroform, không tan trong ether.

Định tính

A. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 20 ml nước nóng, làm lạnh và thêm 1 ml *dung dịch kali iodid* 16,5 %, tua màu vàng xuất hiện.

B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 20 ml nước bằng cách đun nóng. Thêm 0,5 ml *acid nitric đậm đặc* (TT), làm lạnh, để yên 10 phút, lọc. Lấy 3 ml dịch lọc và

thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*, sẽ xuất hiện tủa trắng. Tủa này không tan trong *acid nitric loãng (TT)*, nhưng tan được trong *dung dịch amoniac (TT)* quá thừa.

C. Hòa tan 5 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*. Lắc đều, thêm một ít *bột cloramin B (TT)* sẽ có màu đỏ anh đào.

D. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm 0,001 % trong nước ở dải sóng từ 220 nm đến 350 nm có 3 cực đại hấp thụ ở khoảng 227 nm, 263 nm và 345 nm.

Độ trong của dung dịch

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 50 ml *nước* bằng cách đun nóng trên cách thủy, dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2).

Giới hạn acid

Lắc 0,1 g chế phẩm với 30 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lọc. Thêm vào dịch lọc 2 giọt *dung dịch phenolphthalein (TT)* và 0,10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD)*, màu vàng phải chuyển sang vàng cam rồi đến màu đỏ.

Sulfat

Không được quá 0,048 %.

Dung dịch thử: Lắc 1,0 g chế phẩm với 48 ml *nước* và 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* trong 1 phút, lọc. Bỏ 5 ml dịch lọc đầu, lấy 25 ml dịch lọc tiếp theo và thêm *nước* đến 50 ml trong ống Nessler.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,50 ml *dung dịch acid sulfuric 0,01 N (TT)*, thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, thêm 5 giọt đến 10 giọt *dung dịch xanh bromophenol 0,1 % trong ethanol 50 %* và thêm *nước* đến 50 ml trong ống Nessler.

Cho vào mỗi ống 2 ml *dung dịch bari clorid 0,5 M (TT)*, lắc kỹ, để yên 10 phút. So sánh độ đục tạo thành trong ống thử và ống đối chiếu, dung dịch thử không được đục hơn dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 3 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch thử: Hòa tan chính xác 0,010 g chế phẩm trong 100,0 ml pha động.

Dung dịch chuẩn: Hút chính xác 4 ml dung dịch thử pha loãng với pha động trong bình định mức thành 100 ml.

Pha động: Như trong phần Định lượng.

Điều kiện sắc ký: Detector, cột, nhiệt độ cột, tốc độ dòng, thể tích tiêm và lựa chọn cột tiến hành theo mô tả trong phần Định lượng. Điều chỉnh độ nhạy của hệ

thống sao cho chiều cao pic của berberin có được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn là khoảng 10% của toàn thang đo.

Khoảng thời gian thực hiện quá trình sắc ký sau pic dung môi vào khoảng 2 lần thời gian lưu của berberin. Xác định diện tích của cả hai dung dịch bằng phép tính tích phân tự động. Tổng diện tích của các pic, ngoài pic tương ứng với berberin, trong dung dịch thử phải không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng với berberin trong dung dịch chuẩn.

Nước

Từ 8 % đến 12 % (chuẩn độ trực tiếp, Phụ lục 10.3).

Dùng 0,1 g chế phẩm.

Tro toàn phần

Không được quá 0,10 % (Phụ lục 9.8).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch thử: Hòa tan khoảng 0,010 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan khoảng 0,010 g berberin clorid chuẩn (đã xác định hàm lượng nước), trong pha động và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Pha động: Hòa tan 3,4 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 1,7 g *natri laurylsulfat (TT)* trong hỗn hợp *nước - acetonitril (1 : 1)* và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 345 nm.

Nhiệt độ cột: 40 °C

Tốc độ dòng: điều chỉnh tốc độ dòng sao cho thời gian lưu của berberin vào khoảng 10 phút.

Thể tích tiêm: 10 µl

Lựa chọn cột: Hòa tan 1 mg berberin clorid và 1 mg palmatin clorid trong 10 ml pha động. Tiến hành sắc ký trong những điều kiện nêu trên, độ phân giải giữa palmatin và berberin không nhỏ hơn 1,5.

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm riêng biệt 5 lần dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của berberin không lớn hơn 1,5 %.

Xác định diện tích pic A_T và A_S của berberin lần lượt trong dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Lượng $C_{20}H_{18}NO_4Cl$ (mg) = lượng berberin clorid

$$\text{chuẩn khan (mg)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

Bảo quản

Đóng gói kín, để chỗ thoáng mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng khuẩn. Trị tiêu chảy, lỵ amip, lỵ trực khuẩn.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN BERBERIN CLORID
Tabellae Berberini chloridi

Là viên nén hay viên bao phim chứa berberin clorid. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng berberin clorid, $C_{20}H_{18}ClNO_4 \cdot 2H_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu vàng hay viên bao màu đồng nhất.

Định tính

Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg berberin clorid, thêm 10 ml nước, đun nóng nhẹ, lắc kỹ, lọc.

A. Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 2 giọt dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), xuất hiện màu đỏ cam. Để nguội, thêm 4 giọt aceton (TT), dung dịch vẫn đục ngay lập tức, để yên, xuất hiện tủa vàng. Gạn lớp dịch trong ở trên, thêm từng giọt aceton (TT) cho tới khi alcaloid kết tủa hoàn toàn, lọc. Dịch lọc cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

B. Lấy 0,5 ml dịch lọc, thêm 2 ml dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT), lắc đều. Thêm một ít cloramin B (TT), xuất hiện màu đỏ anh đào.

Định lượng

Cân 20 viên (đã loại bỏ lớp vỏ bao, nếu là viên bao), tính khối lượng trung bình viên (hoặc viên nhân), nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 80 mg berberin clorid, thêm 200 ml nước, đun sôi trong 5 phút, khuấy liên tục. Để nguội, pha loãng với nước thành 500,0 ml, lắc đều. Để lắng tự nhiên hay đem ly tâm. Lấy 5,0 ml dịch trong ở trên, pha loãng với nước thành 100,0 ml, lắc đều. Pha dung dịch berberin clorid chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 8 µg/ml. Đo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử tại bước sóng cực đại khoảng 345 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo dày 1 cm, dùng nước làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng berberin clorid, $C_{20}H_{18}ClNO_4 \cdot 2H_2O$, trong viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{18}ClNO_4 \cdot 2H_2O$ của berberin clorid chuẩn.

Bảo quản

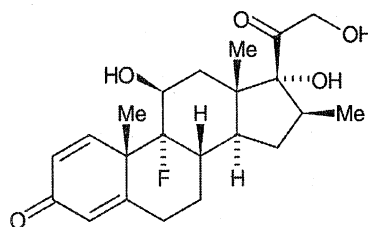
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Trị tiêu chảy, lỵ amip, lỵ trực khuẩn.

Hàm lượng thường dùng

10 mg; 50 mg; 100 mg.

BETAMETHASON
Betamethasonium


$C_{22}H_{29}FO_5$

P.t.l: 392,5

Betamethason là 9-fluoro-11β,17,21-trihydroxy-16β-methylpregna-1,4-dien-3,20-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{22}H_{29}FO_5$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.

Thực tế không tan trong nước, ít tan trong ethanol, rất ít tan trong methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C.

Nhóm II: A, C, D, E.

A. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong ethanol (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 2,0 ml dung dịch cho vào ống nghiệm có nút mài, thêm 10,0 ml dung dịch phenylhydrazin trong acid sulfuric (TT), trộn đều và đun trong cách thủy ở 60 °C trong 20 phút. Làm nguội ngay. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được đo ở bước sóng 419 nm không được lớn hơn 0,10.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của betamethason chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại của mẫu thử và mẫu chuẩn ở trạng thái rắn khác nhau, thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và betamethason chuẩn trong một lượng tối thiểu methylen clorid (TT), bốc hơi đến khô trên nồi cách thủy. Ghi phổ mới của các cần thu được.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Butanol đã bão hòa với nước - toluen - ether (5 : 10 : 85).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp methanol - methylen clorid (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (I): Hòa tan 20 mg betamethason chuẩn trong hỗn hợp methanol - methylen clorid (1 : 9) và pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg dexamethason chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 10 phút hoặc tới khi các vết xuất hiện. Để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc trong ánh sáng ban ngày, huỳnh quang trong đèn tử ngoại ở bước sóng 365 nm và kích thước với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết, tuy nhiên có thể chưa tách hoàn toàn.

D. Trộn khoảng 5 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng (TT)* và nung trong chén nung đến khi cần hầu như trắng hoàn toàn (thường ít hơn 5 phút). Để nguội, thêm 1 ml *nước*, 0,05 ml *dung dịch phenolphthalein (TT₁)* và khoảng 1 ml *acid hydrochloric loãng (TT)* để làm cho dung dịch mất màu. Lọc. Thêm 1,0 ml dịch lọc vào một hỗn hợp mới pha gồm 0,1 ml *dung dịch alizarin S (TT)* và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat (TT)*. Trộn đều, để yên 5 phút và so sánh màu của dung dịch thu được với màu của mẫu trắng được chuẩn bị trong cùng điều kiện. Dung dịch thử có màu vàng và dung dịch mẫu trắng có màu đỏ.

E. Thêm khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc cho tan. Trong vòng 5 phút, màu nâu đỏ xuất hiện. Thêm dung dịch trên vào 10 ml *nước* và trộn đều. Màu biến mất và dung dịch vẫn trong.

Góc quay cực riêng

Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Góc quay cực riêng phải từ +118° đến +126°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong một hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril (TT)* và *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg betamethason chuẩn và 2 mg methylprednisolon chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 100,0 ml với cùng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m). Nhiệt độ cột ở 45 °C.

Pha động A: Trong một bình định mức dung tích 1000 ml trộn 250 ml *acetonitril (TT)* với 700 ml *nước* và để cân bằng, điều chỉnh thể tích đến 1000 ml bằng *nước* và lại trộn đều.

Pha động B: Acetonitril (TT).

Với chương trình rửa giải gradient như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0	100	0	Đẳng dòng
15	100	0	Bắt đầu gradient
40	0	100	Kết thúc chương trình sắc ký, quay về 100 % pha động A
41	100	0	Bắt đầu cân bằng cột với pha động A
46=0	100	0	Kết thúc cân bằng cột, bắt đầu chương trình sắc ký với mẫu tiếp theo

Tốc độ dòng: 2,5 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột với pha động B trong thời gian ít nhất là 30 phút và sau đó với pha động A trong 5 phút. Đối với các lần sắc ký tiếp theo, dùng các điều kiện đã mô tả từ 40 phút đến 46 phút.

Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống để chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu (2) ít nhất bằng 50 % thang đo.

Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Các sắc ký đồ ghi được trong những điều kiện đã mô tả ở trên, thời gian lưu của methylprednisolon khoảng 11,5 phút và betamethason khoảng 12,5 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với methylprednisolon và betamethason không nhỏ hơn 1,5; nếu cần điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động A.

Tiêm riêng biệt mẫu trắng là hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril (TT)* và *methanol (TT)*, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử: Diện tích của bất kỳ pic phụ nào, ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %) và chỉ được phép có 1 pic có diện tích lớn hơn một nửa diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Tổng diện tích các pic, ngoài pic chính không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %). Bỏ qua pic tương ứng với mẫu

trắng và pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

Dùng 0,500 g chế phẩm, sấy ở 100 °C đến 105 °C.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong ethanol 96 % (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với ethanol 96 % (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng cực đại 238,5 nm. Tính hàm lượng $C_{22}H_{29}FO_5$, lấy giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 238,5 nm là 395.

Bảo quản

Trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Corticosteroid.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN BETAMETHASON

Tabellae Betamethasoni

Là viên nén chứa betamethason.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng betamethason, $C_{22}H_{29}FO_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng hoặc trắng ngà.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương đương khoảng 25 mg betamethason với 150 ml dicloromethan (TT) trong 30 phút, lọc, rửa dịch lọc bằng 20 ml nước, cho dịch lọc qua phễu chứa natri sulfat khan (TT). Bốc hơi dịch lọc đến khô và sấy khô cần thu được ở 105 °C trong 2 giờ. Phổ hấp thụ hồng ngoại của cần (Phụ lục 4.2) phải tương ứng với phổ hấp thụ hồng ngoại của betamethason chuẩn.

B. Trong phần định lượng, trên sắc ký đồ đạt được ở dung dịch thử (1) phải có một pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic betamethason trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ đồng đều hàm lượng

Các viên nén có chứa dưới 2 mg betamethason phải đáp ứng yêu cầu trong chuyên luận “Phép thử độ đồng đều hàm lượng” (Phụ lục 11.2).

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động, điều kiện sắc ký và cách tiến hành thực hiện như mô tả ở phần Định lượng.

Dung dịch chuẩn: Là dung dịch có chứa betamethason chuẩn 0,0025 % và hydrocortison 0,002 % (chất chuẩn nội) pha trong methanol 50 % (TT).

Dung dịch thử: Nghiền một viên chế phẩm, thêm 20,0 ml dung dịch hydrocortison 0,002 % pha trong methanol 50 % (TT), lắc kỹ trong 10 phút, lọc.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: Nước - methanol (53 : 47).

Dung dịch chuẩn: Là dung dịch có chứa betamethason chuẩn 0,0125 % và hydrocortison 0,010 % (chất chuẩn nội) pha trong methanol 50 % (TT).

Dung dịch chuẩn nội: Hydrocortison 0,010 % pha trong methanol 50 % (TT).

Dung dịch thử (1): Cân 20 viên xác định khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 2,5 mg betamethason, lắc kỹ trong 10 phút với methanol 50 % (TT) rồi thêm methanol 50 % (TT) vừa đủ 20 ml, lọc.

Dung dịch thử (2): Làm như dung dịch thử (1) nhưng thay dung môi methanol 50 % (TT) bằng dung dịch chuẩn nội.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (20 cm × 5 mm) được nhồi pha tinh C (5 - 10 μm) (Sphérisorb ODS 1 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại, đặt ở bước sóng 238 nm.

Tốc độ dòng: 1,4 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

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

Tính hàm lượng betamethason, $C_{22}H_{29}FO_5$, trong viên dựa vào tỷ số các đáp ứng (diện tích hoặc chiều cao) của các pic betamethason và hydrocortison thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử (2) và hàm lượng $C_{22}H_{29}FO_5$ trong betamethason chuẩn.

Bảo quản

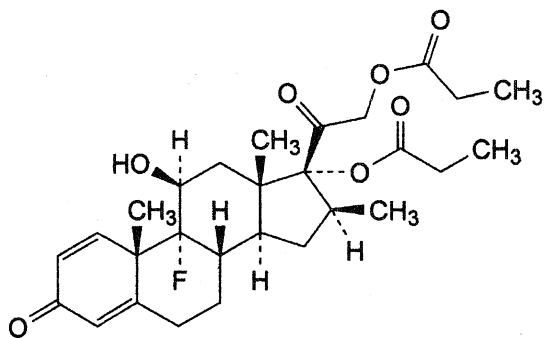
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

Corticosteroid.

Hàm lượng thường dùng

0,5 mg và 0,6 mg.

BETAMETHASON DIPROPIONAT***Betamethasoni dipropionas*** $C_{28}H_{37}FO_7$

P.t.l: 504,6

Betamethason dipropionat là 9-fluoro-11 β -hydroxy-16 β -methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-17,21-diyl dipropionat, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{28}H_{37}FO_7$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, thực tế không tan trong nước, dễ tan trong acetone và trong dicloromethan, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, D, E, F.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của betamethason dipropionat chuẩn.

B. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong ethanol 96 % (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 2,0 ml dung dịch này cho vào một ống nghiệm có nút mài, thêm 10,0 ml dung dịch phenylhydrazin - acid sulfuric (TT). Trộn đều và đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 20 phút. Làm nguội ngay. Độ hấp thụ của dung dịch này đo ở bước sóng 419 nm (Phụ lục 4.1) không được lớn hơn 0,10.

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254} .

Dung môi khai triển:

Hỗn hợp 1: Trộn 1,2 thể tích nước với 8 thể tích methanol (TT).

Hỗn hợp 2: Trộn 15 thể tích ether (TT) với 77 thể tích dicloromethan (TT).

Cho hỗn hợp 1 vào hỗn hợp 2 và trộn đều.

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong một hỗn hợp methanol - dicloromethan (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg betamethason dipropionat chuẩn trong một hỗn hợp methanol - dicloromethan (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg desoxycortone acetat chuẩn trong một hỗn hợp methanol - dicloromethan (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng

dung môi. Lấy 5 ml dung dịch này, pha loãng bằng dung dịch đối chiếu (1) thành 10 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Một vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phun lên bản mỏng dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT). Sấy ở 120 °C trong 10 phút hoặc cho đến khi xuất hiện các vết. Để nguội. Kiểm tra sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày và dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Một vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc (khi quan sát dưới đèn tử ngoại 365 nm) và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 2 vết tách riêng biệt.

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254} .

Dung môi khai triển:

Hỗn hợp 1: Trộn 1,2 thể tích nước với 8 thể tích methanol (TT).

Hỗn hợp 2: Trộn 15 thể tích ether (TT) với 77 thể tích dicloromethan (TT).

Trộn đều hỗn hợp 1 với hỗn hợp 2.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25 mg chế phẩm trong methanol (TT) bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 5 ml với methanol (TT) (dung dịch a_1). Pha loãng 2 ml dung dịch a_1 thành 10 ml với dicloromethan (TT).

Dung dịch thử (2): Lấy 2 ml dung dịch a_1 cho vào một ống nghiệm dung tích 15 ml có nút mài hoặc có nắp đậy bằng polytetrafluoroethylen. Thêm 10 ml dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol (TT), sục ngay khí nitơ qua dung dịch trong 5 phút. Đậy ống. Đun nóng trong cách thủy ở 45 °C trong 2 giờ, tránh ánh sáng. Để nguội.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg betamethason dipropionat chuẩn trong methanol (TT) bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi (dung dịch đối chiếu a_1). Pha loãng 2 ml dung dịch này thành 10 ml với dicloromethan (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 2 ml dung dịch đối chiếu a_1 cho vào một ống nghiệm có nút mài hoặc có nắp đậy bằng polytetrafluoroethylen, dung tích 15 ml. Thêm 10 ml dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol (TT) và cho sục ngay khí nitơ qua dung dịch trong 5 phút. Đậy ống nghiệm. Đun nóng trong cách thủy ở 45 °C trong 2 giờ, tránh ánh sáng. Để nguội.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng mỗi dung dịch 5 μ l. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi

được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và kiểm tra dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Một vết chính trên sắc ký đồ của mỗi dung dịch thử phải có kích thước và vị trí tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy ở 120 °C trong 10 phút hoặc cho đến khi xuất hiện các vết. Để nguội. Kiểm tra sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày và dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Một vết chính trên sắc ký đồ của mỗi dung dịch thử có vị trí, màu sắc (khi quan sát dưới ánh sáng ban ngày) hoặc huỳnh quang (khi quan sát dưới đèn tử ngoại ở 365 nm) và kích thước tương tự như vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng. Vết chính trên mỗi sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có giá trị R_f thấp hơn hẳn giá trị R_f của các vết chính trên mỗi sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

E. Lấy 2 mg chế phẩm cho vào 2 ml *acid sulfuric (TT)*, lắc cho tan. Trong vòng 5 phút, xuất hiện màu nâu đỏ. Đổ dung dịch này vào 10 ml *nước* và trộn đều. Màu biến mất, dung dịch trong.

F. Trộn 5 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng (TT)* và nung trong chén cho đến khi tạo cặn gần như trắng (thường dưới 5 phút). Để nguội, thêm 1 ml *nước*; 0,05 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* và khoảng 1 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)* để làm cho dung dịch mất màu. Lọc. Lấy 1,0 ml dịch lọc cho vào một hỗn hợp vừa mới điều chế gồm 0,1 ml *dung dịch alizarin S (TT)* và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat (TT)*. Trộn đều, để yên trong 5 phút. So sánh màu của dung dịch này với màu của mẫu trắng được điều chế tương tự. Dung dịch thử có màu vàng, mẫu trắng có màu đỏ.

Góc quay cực riêng

Từ +63° đến +70°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dioxan (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn cân thận 350 ml *nước* với 600 ml *acetonitril (TT)*. Để yên cho hỗn hợp cân bằng. Thêm *nước* đủ 1000 ml và trộn đều.

Dung dịch thử: Hòa tan 62,5 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng bằng pha động thành 25,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,5 mg betamethason dipropionat chuẩn và 2,5 mg beclomethason dipropionat chuẩn trong pha động và pha loãng bằng pha động thành 50,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm), chất nhồi *octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 μm)*.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

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

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) từ 70 % đến 90 % chiều cao của cả thang đo.

Cân bằng cột bằng pha động ở tốc độ dòng 1 ml/min trong khoảng 45 phút. Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Thời gian lưu của betamethason dipropionat là khoảng 9 phút, beclomethason dipropionat là khoảng 10,7 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic betamethason dipropionat và pic beclomethason dipropionat ít nhất là 2,5; nếu cần, điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động.

Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Tiến hành sắc ký trong một thời gian dài gấp 2,5 lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào, trừ pic chính cũng không được lớn hơn 0,75 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %) và tối đa chỉ có một pic có diện tích lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2) (1 %). Tổng diện tích của tất cả các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn 1,25 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,5 %). Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn 0,025 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được tại bước sóng hấp thụ cực đại ở 240 nm (Phụ lục 4.1).

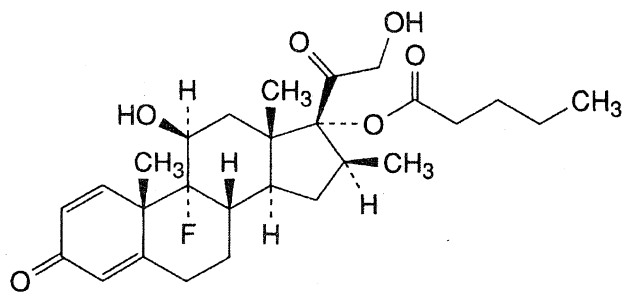
Tính hàm lượng $C_{28}H_{37}FO_7$, lấy giá trị độ hấp thụ riêng là 305.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Corticosteroid.

BETAMETHASON VALERAT***Betamethasoni valeras*** $C_{27}H_{37}FO_6$

P.t.l: 476,6

Betamethason valerat là 9-fluoro-11 β ,21-dihydroxy-16 β -methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-17-yl pentanoat, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{27}H_{37}FO_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton và trong methylen clorid, tan trong ethanol 96 %. Chảy ở khoảng 192 °C kèm theo phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, E, F, G

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của betamethason 17-valerat chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm và chuẩn ở trạng thái rắn có sự khác nhau, thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chuẩn trong một lượng tối thiểu *cloroform* (TT), bốc hơi đến khô trên nồi cách thủy và ghi phổ mới của những cần thu được.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử góc quay cực riêng (mục Góc quay cực riêng).

C. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong *ethanol* (TT) và pha loãng tới 100,0 ml bằng cùng dung môi. Lấy 2,0 ml dung dịch này cho vào ống nghiệm có nút mài, thêm 10,0 ml *dung dịch phenylhydrazin - acid sulfuric* (TT) trộn đều và đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 20 phút. Làm nguội ngay. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 419 nm không được lớn hơn 0,10.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển:

Hỗn hợp 1: Trộn 1,2 thể tích *nước* với 8 thể tích *methanol* (TT).

Hỗn hợp 2: Trộn 15 thể tích *ether* (TT) với 77 thể tích *dicloromethan* (TT).

Trộn đều hỗn hợp 1 và hỗn hợp 2.

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9), pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg betamethason 17-valerat chuẩn trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg betamethason 21-valerat chuẩn trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 5 ml dung dịch này thành 10 ml bằng dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và kiểm tra dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng giá trị R_f và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol* (TT). Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 10 phút hoặc tới khi vết xuất hiện. Để nguội. Kiểm tra dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách riêng biệt rõ ràng.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Giống phép thử D.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) bằng cách làm nóng nhẹ và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Dung dịch này cũng được dùng để chuẩn bị dung dịch thử (2). Pha loãng 2 ml dung dịch trên thành 10 ml bằng *methylen clorid* (TT).

Dung dịch thử (2): Chuyển 2 ml dung dịch thu được trong quá trình chuẩn bị của dung dịch thử (1) vào một ống nghiệm thủy tinh dung tích 15 ml có nút mài hoặc nắp bằng polytetrafluoroethylen, thêm 10 ml *dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol* (TT) và ngay lập tức cho một luồng khí nitrogen đi nhanh qua dung dịch trong 5 phút, đậy nắp ống nghiệm. Đun nóng trong cách thủy ở 45 °C, tránh ánh sáng trong 3 giờ. Để nguội.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg betamethason 17-valerat chuẩn trong *methanol* (TT) bằng cách làm nóng nhẹ và pha loãng thành 5 ml bằng cùng dung môi. Dung dịch này cũng được dùng để chuẩn bị dung dịch đối chiếu (2). Pha loãng 2 ml dung dịch trên thành 10 ml bằng *methylen clorid* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Chuyển 2 ml dung dịch thu được trong quá trình chuẩn bị của dung dịch đối chiếu (1) vào một ống nghiệm thủy tinh dung tích 15 ml có

nút mài hoặc nắp bằng polytetra fluoroethylen, thêm 10 ml *dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol (TT)* và ngay lập tức cho một luồng khí nitrogen đi nhanh qua dung dịch trong 5 phút, đầy nắp ống nghiệm. Đun nóng trong cách thủy ở 45 °C, tránh ánh sáng trong 3 giờ. Để nguội.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và kiểm tra dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên từng sắc ký đồ thu được của các dung dịch thử phải giống về vị trí, kích thước với vết chính trên các sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 10 phút hoặc tới khi vết xuất hiện. Để nguội. Kiểm tra dưới ánh sáng ban ngày và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trên từng sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm và kích thước với vết chính trên các sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có giá trị R_f thấp hơn giá trị R_f của vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

F. Thêm 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc cho tan. Trong vòng 5 phút, màu nâu đỏ xuất hiện. Thêm dung dịch trên vào 10 ml *nước* và trộn đều. Màu bị biến mất và dung dịch vẫn trong.

G. Trộn khoảng 5 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng (TT)* và nung trong chén nung đến khi gần như trắng hoàn toàn (thường ít hơn 5 phút). Để nguội, thêm 1 ml *nước*, 0,05 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* và khoảng 1 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)* để làm cho dung dịch mất màu. Lọc. Thêm 1,0 ml dịch lọc vào một hỗn hợp mới pha gồm 0,1 ml *dung dịch alizarin S (TT)* và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat (TT)*. Trộn đều và để yên 5 phút. So sánh màu của dung dịch với màu của mẫu trắng được chuẩn bị trong cùng điều kiện. Dung dịch thử có màu vàng và dung dịch của mẫu trắng có màu đỏ.

Góc quay cực riêng

Từ +75° đến +82°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dioxan (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn đều 350 ml *nước* với 600 ml *acetonitril (TT)* và để cân bằng; điều chỉnh thể tích đến 1000 ml bằng *nước* và trộn đều.

Dung dịch A: Thêm 1 ml *acid acetic băng (TT)* vào 1000 ml pha động, trộn đều.

Dung dịch thử: Hòa tan 62,5 mg chế phẩm trong dung dịch A và pha loãng thành 25,0 ml bằng dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg betamethason 17-valerat chuẩn và 2 mg betamethason 21-valerat chuẩn trong dung dịch A và pha loãng thành 50,0 ml bằng dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng dung dịch A.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột với pha động trong khoảng thời gian 45 phút.

Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) từ 70 % đến 90 % của thang đo.

Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Với sắc ký đồ được ghi trong điều kiện đã mô tả ở trên: thời gian lưu của betamethason 17-valerat khoảng 7 phút; betamethason 21-valerat khoảng 9 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tương ứng với betamethason 17-valerat và betamethason 21-valerat ít nhất là 5,0; nếu cần thiết, điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động.

Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Tiến hành chạy sắc ký trong khoảng thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào ngoài pic chính không được lớn hơn 0,75 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %) và chỉ được 1 pic có diện tích pic lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %); Tổng diện tích của tất cả các pic ngoài pic chính không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (3,0 %). Bỏ qua bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,025 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *ethanol 96% (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Lấy 2,0 ml dung dịch trên pha loãng thành 50,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 240 nm.

Tính hàm lượng $C_{27}H_{37}FO_6$ theo độ hấp thụ riêng là 325.

Bảo quản

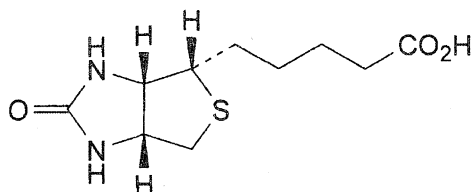
Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống viêm dạng steroid.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc tiêm, dạng kem, thuốc mỡ, gel, dung dịch thực.

BIOTIN***Biotinum***

$C_{10}H_{16}N_2O_3S$

P.t.l: 244,3

Biotin là acid 5-[(3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydrothieno-[3,4-d]imidazol-4-yl]pentanoic, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{10}H_{16}N_2O_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể không màu, rất khó tan trong nước và ethanol (96 %), thực tế không tan trong acetone, tan trong các dung dịch loãng của hydroxyd kim loại kiềm.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm thử phải phù hợp với phổ hồng ngoại của biotin chuẩn.

B. Kiểm tra sắc ký đồ của dung dịch thử các tạp chất liên quan (xem mục các Tạp chất liên quan). Một vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) có vị trí và kích thước tương tự như vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

C. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 20 ml nước bằng cách đun nóng. Để nguội. Thêm 0,1 ml nước brom (TT). Nước brom bị mất màu.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong dung dịch natri hydroxyd 0,4 % và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

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

Góc quay cực riêng

Từ +89° đến +93°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel (5 μm).

Dung môi khai triển: Methanol - acid acetic băng - toluen (5 : 25 : 75).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 50 mg chế phẩm trong acid acetic băng (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng acid acetic băng (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg biotin chuẩn trong acid acetic băng (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng acid acetic băng (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 40 ml bằng acid acetic băng (TT).

Các dung dịch này pha ngay trước khi dùng và phải bảo quản tránh ánh sáng chói.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được một khoảng dài 15 cm. Làm khô bản mỏng trong luồng không khí ẩm. Để nguội và phun lên bản mỏng dung dịch 4-dimethylaminocinamaldehyd (TT). Kiểm tra ngay sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày. Bất kỳ vết nào, trừ vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) cũng không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %) và tối đa chỉ có một vết đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,25 %).

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 10 ml dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Định lượng

Lắc 0,200 g chế phẩm trong 5 ml dimethylformamid (TT). Đun nóng cho đến khi chế phẩm tan hoàn toàn. Thêm 50 ml ethanol (TT) và chuẩn độ bằng dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CD), xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CD) tương đương với 24,43 mg $C_{10}H_{16}N_2O_3S$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin.

VIÊN NÉN BIOTIN

Tabellae Biotini

Là viên nén chứa biotin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng biotin, $C_{10}H_{16}N_2O_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng hay trắng ngà.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic biotin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

B. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 10 mg biotin, thêm 20 ml nước, đun nóng và để nguội, thêm 0,1 ml dung dịch nước brom (TT). Dung dịch phải làm mất màu nước brom.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Chuyển 85 ml acetonitril (TT), 1 g natri perclorat (TT) và 1 ml acid phosphoric (TT) vào bình định mức 1000 ml, hòa loãng với nước vừa đủ tới vạch, trộn đều, lọc và đuổi khí. Điều chỉnh pha động nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 67 mg biotin chuẩn vào bình định mức 200 ml, thêm dimethyl sulfoxid (TT) để hòa tan và pha loãng bằng dimethyl sulfoxid (TT) vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lấy 3,0 ml dung dịch trên cho vào bình định mức 200 ml, hòa loãng với nước vừa đủ đến vạch và trộn đều.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1 mg biotin vào bình định mức 200 ml. Thêm 3 ml dimethyl sulfoxid (TT), lắc xoáy để làm ẩm bột thuốc. Đặt bình thử trong nồi cách thủy ở nhiệt độ từ 60 °C đến 70 °C trong 5 phút. Tiếp tục lắc siêu âm 5 phút, thêm nước đến vạch, trộn đều và lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tinh B (3 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 200 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 100 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm và ghi sắc ký đồ của dung dịch chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trong 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 3 %.

Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng biotin, $C_{10}H_{16}N_2O_3S$, trong viên dựa theo diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{10}H_{16}N_2O_3S$ của biotin chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

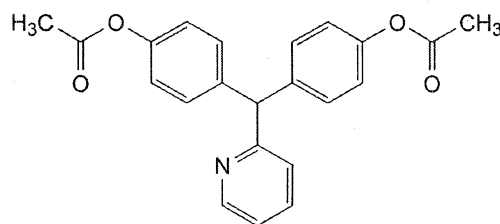
Vitamin nhóm B.

Hàm lượng thường dùng

0,3 mg; 0,6 mg và 5 mg.

BISACODYL

Bisacodylum



$C_{22}H_{19}NO_4$

P.t.l: 361,4

Bisacodyl là 4,4'-(pyridin-2-ylmethylene)diphenyl diacetat, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{22}H_{19}NO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, thực tế không tan trong nước, tan trong aceton, hơi tan trong ethanol 96 %, tan trong các acid vô cơ loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: C.

Nhóm II: A, B, D.

A. Điểm chảy: Từ 131 °C đến 135 °C (Phụ lục 6.7).

B. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong dung dịch kali hydroxyd 0,6 % trong methanol và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với dung dịch kali hydroxyd 0,6 % trong methanol. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) từ 220 nm đến 350 nm, dung dịch có một cực đại hấp thụ ở 248 nm và một vai ở 290 nm. Độ hấp thụ riêng tại cực đại từ 632 đến 672.

C. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của mẫu thử phải phù hợp với phổ hồng ngoại của bisacodyl chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại của mẫu thử khác với phổ hồng ngoại của bisacodyl chuẩn thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và bisacodyl chuẩn trong cloroform (TT), bay hơi tới gần rồi tiến hành ghi phổ lại.

D. Phun lên bản mỏng ở phần xác định tạp chất liên quan hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch iod 0,05 M

và dung dịch acid sulfuric loãng (TT). Quan sát dưới ánh sáng thường. Vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2) phải giống với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.

Giới hạn acid - base

Thêm 20 ml nước không có carbon dioxyl (TT) vào 1,0 g chế phẩm, lắc, đun nóng tới sôi, làm nguội và lọc. Thêm 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 M và 0,1 ml dung dịch đỏ methyl (TT). Dung dịch có màu vàng. Dung dịch chuyển từ màu vàng sang màu đỏ khi thêm không quá 0,4 ml dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (CĐ).

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Xylen - methylethylketon (50 : 50).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong acetone (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) với acetone (TT) thành 10 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg bisacodyl chuẩn trong acetone (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng acetone (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (2) với acetone (TT) thành 10,0 ml.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí, nếu cần thiết sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C và soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bắt kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %), và chỉ cho phép có một vết phụ đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 60 ml acid acetic khan (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2)

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 36,14 mg C₂₂H₁₉NO₄.

Bảo quản

Bảo quản trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Nhãn

Phải quy định rõ thời hạn sử dụng và điều kiện bảo quản.

Loại thuốc

Nhuận tràng.

Chế phẩm

Viên nén, viên đạn.

VIÊN NÉN BISACODYL

Tabellae Bisacodyli

Là viên nén bao tan trong ruột chứa bisacodyl.

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

Hàm lượng bisacodyl, C₂₂H₁₉NO₄, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao màu đồng nhất.

Định tính

A. Lắc kỹ một lượng bột viên chứa khoảng 50 mg bisacodyl với cloroform (TT), lọc, cho bay hơi dịch lọc tới khô. Hòa tan cân thu được trong 10 ml dung dịch acid sulfuric 0,5 % (TT) (dung dịch A). Lấy 2 ml dung dịch A, thêm 0,05 ml dung dịch kali tetraiodo-mercurat (TT), xuất hiện tủa trắng.

B. Thêm acid sulfuric (TT) vào 2 ml dung dịch A, xuất hiện màu tím đỏ.

C. Đun sôi 2 ml dung dịch A với một ít acid nitric (TT), xuất hiện màu vàng. Để nguội, thêm dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT), màu trở thành nâu vàng.

D. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) về vị trí, màu sắc và kích thước.

Độ rã

Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của Phép thử độ rã của viên nén bao tan trong ruột (Phụ lục 11.7). Thay thế dung dịch đệm phosphat hỗn hợp pH 6,8 (TT) bằng dung dịch natri hydrocarbonat 1,5 %.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Butan-2-on - xylen (1 : 1).

Dung dịch thử (1): Cân một lượng bột viên tương ứng với 50 mg bisacodyl, thêm 5 ml acetone (TT), lắc 10 phút, ly tâm và sử dụng dịch trong ở trên.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử (1) thành 5 thể tích với *aceton* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 3 thể tích dung dịch thử (1) thành 100 thể tích với *aceton* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch bisacodyl chuẩn 0,2 % trong *aceton* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1) (ngoài vết tá được) có giá trị R_f bằng 1,3 R_f của vết chính, không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1).

Định lượng

Loại bỏ lớp vỏ bao, cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 40 mg bisacodyl vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *cloroform* (TT), lắc trong 30 phút, pha loãng với *cloroform* (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với *cloroform* (TT). Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng 264 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là *cloroform* (TT). Tính hàm lượng bisacodyl, $C_{22}H_{19}NO_4$, trong viên theo A (1 %, 1 cm), lấy 148 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 264 nm.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Nhuận tràng.

Hàm lượng thường dùng

5 mg.

BÔNG HÚT NƯỚC

Lanugo gossypii absorbens

Bông hút nước chế từ lông của hạt cây Bông (các loài trong chi *Gossypium* L.), họ Bông (Malvaceae), đã loại mỡ, tẩy trắng và làm tơi.

Tính chất

Là những sợi mảnh, mềm và trắng, không mùi, không vị và không có lẫn các mảnh lá hoặc vỏ hạt.

Định tính

A. Xác định bằng cách soi kính hiển vi, mỗi sợi giống như một tế bào đơn, dài tới 4 cm và rộng tới 40 μ m, dạng hình ống bẹt, thành dày và thường bị xoắn.

B. Khi ngâm trong *dung dịch kẽm clorid - iod* (TT), sợi chuyển màu tím.

C. Lấy 1 g chế phẩm thêm 10 ml *dung dịch kẽm clorid - acid formic* (TT). Làm nóng ở 40 °C và để yên trong 2 giờ 30 phút, thỉnh thoảng lắc. Chế phẩm phải không được hòa tan.

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 150 ml *nước* mới đun sôi và để nguội vào 15,0 g bông, ngâm trong 2 giờ. Gạn lấy lớp nước, dùng thìa thủy tinh ép lấy nước còn lại và tập trung nước thu được, trộn đều. Để riêng 10 ml nước thu được để thử chất hoạt động bề mặt, lọc phần nước còn lại. Cho 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT) vào 25 ml dịch lọc và 0,05 ml *dung dịch methyl da cam* (TT) vào 25 ml dịch lọc khác. Cả hai dung dịch không được có màu hồng.

Chất hoạt động bề mặt

Cho 10 ml nước để riêng ở phép thử giới hạn acid - kiềm vào một ống đong chia độ, nút mài có dung tích 25 ml, đường kính ngoài 18 mm đến 22 mm, đã được tráng trước bằng *acid sulfuric* (TT) và bằng *nước*. Lắc mạnh 30 lần trong 10 giây, để yên 1 phút và lắc lại 30 lần nữa. Sau 5 phút, chiều cao của cột bọt phía trên bề mặt lớp nước không được quá 2 mm.

Tốc độ chìm

Chuẩn bị một rô thử nghiệm làm từ sợi đồng có đường kính 0,44 mm, khoảng cách giữa các sợi đồng là 20 mm. Rô hình trụ có đường kính 50,0 mm và sâu 80,0 mm, có khối lượng khoảng 3,0 g. Đặt 5 g bông vào rô và giữ rô cách mặt nước 12 mm. Nước được duy trì ở 24 °C đến 26 °C và có chiều sâu 200 mm. Thả rô nhẹ nhàng xuống nước. Thời gian để rô chìm xuống hoàn toàn không được quá 8 giây.

Khả năng hút nước

Để rô đã chìm trong phép thử Tốc độ chìm khoảng 3 phút. Nhấc nhẹ nhàng rô lên khỏi mặt nước, đặt rô ở vị trí thẳng đứng trên rây có số rây thích hợp (1400 đến 2000) và để cho nước chảy 1 phút. Sau đó đặt rô vào cốc và cân. Khối lượng nước đã hút không ít hơn 100,0 g.

Các sợi khác

Nhúng 1,0 g bông vào *dung dịch iod* 0,5 M trong 1/2 phút và rửa kỹ bằng *nước*. Không được tìm thấy sợi nào bị nhuộm màu.

Phát quang

Quan sát lớp bông dày khoảng 5 mm dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm, chỉ được phát quang màu tím nâu nhạt và có một vài tiểu phân màu vàng. Chỉ được phép có một vài sợi đơn lẻ phát quang màu xanh lam đậm.

Chất màu chiết được

Thấm ướt 10,0 g bông bằng *ethanol* 96 % (TT), để ngâm trong 4 giờ. Chuyển vào bình chiết ngâm nhỏ giọt, mở khóa vòi rút dịch chiết, thêm *ethanol* 96 % (TT) đến khi vài giọt dịch chiết chảy ra, đóng khóa và

thêm *ethanol* 96 % (TT) đến khi ngập mặt bông. Để ngâm 24 giờ. Sau đó rút từ từ dịch chiết đến khi được khoảng 38 ml, ép lớp bông. Trộn dịch ép thu được với dịch chiết và thêm *ethanol* 96 % (TT) vừa đủ 50 ml. Dung dịch thu được có màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2) không được đậm hơn màu mẫu V₅, VL₆ hay màu của dung dịch được chuẩn bị như sau: Lấy 3,0 ml dung dịch gốc màu xanh, thêm 7,0 ml *dung dịch acid hydrochloric* 1 % (TT). Pha loãng 0,5 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng *dung dịch acid hydrochloric* 1 % (TT).

Chất tan trong ether

Không được quá 0,5 %.

Chiết 5,0 g bông với ether bằng thiết bị Soxhlet trong 4 giờ với tốc độ ít nhất 4 lần chiết trong 1 giờ. Bốc hơi dịch chiết ether đến cạn và sấy cần đến khối lượng không đổi ở 105 °C.

Chất tan trong nước

Không được quá 0,5 %.

Đun sôi 5,0 g bông với 500 ml *nước* trong 30 phút, khuấy thường xuyên và bù lượng nước mất đi do bay hơi. Gạn lấy lớp nước vào cốc, dùng thìa thủy tinh ép lấy nước còn lại, tập trung vào cốc và lọc nóng. Bốc hơi 400 ml dịch lọc đến cạn và sấy cần đến khối lượng không đổi ở 105 °C.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.6).
(5,000 g, 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,40 % (Phụ lục 9.9).

Cân 5,00 g chế phẩm vào một chén nung đã được nung nóng, để nguội và cân. Đun nóng cần thận trực tiếp trên ngọn lửa, sau đó nung từ từ âm i ở 600 °C. Để nguội, thêm vài giọt *dung dịch acid sulfuric loãng* (TT), sau đó lại đun nóng và nung đến khi không còn các tiểu phân màu đen. Để nguội, thêm vài giọt *dung dịch amoni carbonat* 20 % (TT). Bốc hơi sau đó nung cần thận, để nguội và cân. Tiếp tục nung, để nguội, cân đến khối lượng không đổi, mỗi lần nung trong thời gian 5 phút.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, tránh bụi.

BÔNG HÚT NƯỚC TIỆT KHUẨN

Lanugo gossypii absorbens sterilis

Bông hút nước tiết khuẩn phải đạt tất cả các yêu cầu trong chuyên luận “Bông hút nước”. Đôi khi có màu hơi vàng do được tiết khuẩn bằng nhiệt.

Thử vô khuẩn

Bông hút nước tiết khuẩn phải đáp ứng yêu cầu của phép Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Bảo quản

Bảo quản trong đồ bao gói kín tránh nhiễm khuẩn, để nơi khô.

BỘT BÓ

Calci sulfat ustus

Calci sulfat khô

CaSO₄.½ H₂O

P.t.l: 145,1

Calci sulfat khô được điều chế bằng cách đun nóng bột thạch cao CaSO₄.2H₂O ở nhiệt độ khoảng 150 °C. Chú ý kiểm soát quá trình đun để chuyển gần hết sang dạng hemihydrat, CaSO₄.1/2H₂O và tạo ra rất ít calci sulfat khan. Chế phẩm có thể chứa một lượng thích hợp các chất làm tăng hoặc giảm tốc độ ngưng kết.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng, không mùi hoặc gần như không mùi, dễ hút ẩm.

Khó tan trong nước, dễ tan hơn trong các dung dịch acid vô cơ loãng, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Chế phẩm phải cho phản ứng định tính của calci và của sulfat (Phụ lục 8.1).

Đặc tính ngưng kết

Lấy 20 g chế phẩm trộn với 10 ml *nước* ở 15 °C đến 20 °C trong một cái khuôn hình trụ có đường kính khoảng 2,4 cm. Để yên 4 phút đến 11 phút. Bột sẽ đóng cứng lại, sau đó để yên trong 3 giờ, bột phải có độ cứng đủ để chịu được lực khi ấn các ngón tay vào mép mà vẫn duy trì được độ sắc cạnh ở đường viền phía ngoài và không bị vỡ vụn.

Mất khối lượng do nung

Từ 4,5 % đến 8,0 %.

[1,00 g chế phẩm, nung đỏ (khoảng 600 °C) đến khối lượng không đổi].

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín.

BỘT TALC

Talcum

Bột talc là magnesi silicat hydrat tự nhiên đã được lựa chọn và làm thành bột mịn. Bột talc tinh khiết có công thức phân tử là [Mg₃Si₄O₁₀(OH)₂; P.t.l: 379,3]. Có thể chứa một lượng khác nhau các chất khoáng, trong đó nhiều nhất là các clorit (nhôm hydrat và magnesi silicat), magnesit (magnesi carbonat), calcit (calci carbonat) và dolomit (calci và magnesi carbonat).

Sản xuất

Bột talc được dẫn xuất từ các trầm tích (deposits) có chứa amiăng không được dùng trong dược dụng. Nhà

sản xuất có trách nhiệm chứng minh sản phẩm không có amiăng bằng phép thử xác định amphibol và serpentinit. Sự có mặt của amphibol và serpentinit được phát hiện bằng phương pháp quang phổ hấp thụ hồng ngoại hoặc nhiễu xạ tia X (phép thử A hoặc B). Nếu thấy các chất trên, kiểm tra tiêu chuẩn hình thái học đặc trưng của amiăng bằng phương pháp soi kính hiển vi quang học thích hợp để xác định là tremolit hay là chrysolit.

A. Tiến hành phương pháp quang phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2). Trong khoảng 740 cm^{-1} đến 760 cm^{-1} , dùng thang đo mở rộng, chế phẩm có thể có tremolit hoặc clorit nếu thấy bất cứ dải hấp thụ nào ở $758 \pm 1\text{ cm}^{-1}$. Chế phẩm có tremolit nếu dải hấp thụ không thay đổi sau khi nung chế phẩm ở 850°C trong ít nhất 30 phút. Trong khoảng 600 cm^{-1} đến 650 cm^{-1} , dùng thang đo mở rộng, chế phẩm có thể có serpentinit, nếu xuất hiện bất cứ dải hấp thụ hoặc vai nào.

B. Tiến hành phương pháp nhiễu xạ tia X theo các điều kiện sau:

Tia bức xạ 40 kV đơn sắc $\text{Cu K}\alpha$, 24 mA đến 30 mA .

Khe tới: 1°

Khe phát hiện: $0,2^\circ$

Tốc độ máy đo góc: $1/10^\circ/20/\text{phút}$.

Vùng quét: 10° đến $13^\circ 20'$ và 24° tới $26^\circ 20'$.

Mẫu không định hướng.

Đặt mẫu thử vào trong giá đỡ mẫu; đóng lại và làm trơn bề mặt bằng phiến kính hiển vi thủy tinh đã được làm bóng.

Ghi phổ nhiễu xạ.

Mẫu thử chứa amphibol khi có pic nhiễu xạ ở $10,5 \pm 0,1^\circ 2\theta$, và chứa serpentinit khi có pic nhiễu xạ ở $24,3 \pm 0,1^\circ 2\theta$ và ở $12,1 \pm 0,1^\circ 2\theta$.

Nếu một trong 2 phương pháp trên phát hiện thấy amphibol và/hoặc serpentinit, thì tiến hành soi kính hiển vi để xác định tính chất của amiăng.

Khi soi kính hiển vi, amiăng được tìm thấy nếu có các tiêu chí sau:

Tỷ lệ giữa chiều dài và chiều rộng từ $20:1$ đến $100:1$, hoặc cao hơn với các sợi dài hơn $5\text{ }\mu\text{m}$;

Có khả năng phân tách thành các sợi mảnh rất mỏng;

và nếu có 2 hoặc nhiều hơn trong 4 tiêu chí sau:

Các sợi song song xếp thành từng bó.

Các bó sợi bị xơ ở phía cuối.

Các sợi ở dạng hình kim mảnh.

Khối kết lại của các sợi riêng lẻ và/hoặc các sợi có dạng đường cong.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng, nhẹ, đồng nhất, trơn tay (không ăn tay). Thực tế không tan trong nước, ethanol 96% và trong các dung dịch acid loãng hay hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Tiến hành phương pháp quang phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2), phổ cho dải hấp thụ ở $3677 \pm 2\text{ cm}^{-1}$, $1018 \pm 2\text{ cm}^{-1}$ và $669 \pm 2\text{ cm}^{-1}$.

B. Đun nóng chảy hỗn hợp $0,2\text{ g}$ *natri carbonat khan* (TT) và $2,0\text{ g}$ *kali carbonat* (TT) trong chén platin. Thêm vào khối nóng chảy $0,1\text{ g}$ chế phẩm và đun nóng cho đến khi hỗn hợp nóng chảy hoàn toàn. Để nguội và chuyển khối đã nóng chảy vào đĩa bốc hơi bằng 50 ml nước nóng. Thêm *acid hydrocloric* (TT) cho đến khi hết sủi bọt. Thêm 10 ml *acid hydrocloric* (TT) và bốc hơi trên cách thủy tới khô. Để nguội. Thêm 20 ml nước, đun tới sôi và lọc (cần được dùng cho phản ứng định tính C). Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 1 ml *amoniac* (TT) và 1 ml *dung dịch amoni clorid* $10,7\%$, lọc. Thêm 1 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat* 9% vào dịch lọc, tủa kết tinh trắng được tạo thành.

C. Căn thu được trong phép thử định tính B cho phản ứng của silicat (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm

Đun sôi $2,5\text{ g}$ chế phẩm với 50 ml nước không có carbon dioxyl (TT) dưới ống sinh hàn ngược. Lọc chân không. Thêm $0,1\text{ ml}$ *dung dịch xanh bromothymol* (TT₁) vào 10 ml dịch lọc, màu của dung dịch phải chuyển sang xanh lục khi thêm không quá $0,4\text{ ml}$ *dung dịch acid hydrocloric* $0,01\text{ M}$ (CĐ). Thêm $0,1\text{ ml}$ *dung dịch phenolphthalein* (TT₁) vào 10 ml dịch lọc, màu của dung dịch phải chuyển sang hồng khi thêm không quá $0,3\text{ ml}$ *dung dịch natri hydroxyd* $0,01\text{ M}$ (CĐ).

Chất tan trong nước

Không được quá $0,2\%$.

Lấy $10,0\text{ g}$ chế phẩm, thêm 50 ml nước không có carbon dioxyl (TT), đun tới sôi và duy trì sôi dưới ống sinh hàn ngược trong 30 phút. Để nguội, lọc qua một giấy lọc có tốc độ lọc trung bình và pha loãng dịch lọc thành $50,0\text{ ml}$ bằng nước không có carbon dioxyl (TT). Bốc hơi $25,0\text{ ml}$ dịch lọc tới khô và sấy ở 105°C trong 1 giờ. Khối lượng căn thu được không quá 10 mg .

Nhôm

Không được quá $2,0\%$.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch S₂: Các perclorat trộn với các kim loại nặng dễ gây nổ. Phải tiến hành thao tác cẩn thận khi chuẩn bị dung dịch này. Cân $0,5\text{ g}$ chế phẩm vào một đĩa làm bằng polytetrafluoroethylen có dung tích 100 ml , thêm 5 ml *acid hydrocloric* (TT), 5 ml *acid nitric* không có chì và 5 ml *acid percloric* (TT). Khuấy

nhẹ, sau đó thêm 35 ml *acid hydrofluoric* (TT) và bốc hơi từ từ tới khô. Thêm 5 ml *acid hydrochloric* (TT) vào cốc, đặt đĩa bằng mặt kính đồng hồ, đun tới sôi và để nguội. Rửa mặt kính đồng hồ và đĩa bằng nước. Chuyển dịch thu được vào bình định mức 50 ml, rửa đĩa bằng nước và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Lấy 5,0 ml dung dịch S₂, thêm 10 ml dung dịch cesi clorid 2,534 %, 10,0 ml *acid hydrochloric* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước.

Các dung dịch đối chiếu: Lấy 4 bình định mức có dung tích 100 ml, mỗi bình có chứa 10,0 ml *acid hydrochloric* (TT) và 10 ml dung dịch cesi clorid 2,534 %, thêm lần lượt vào mỗi bình 5,0 ml, 10,0 ml, 15,0 ml và 20,0 ml dung dịch nhôm mẫu 100 phần triệu (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước.

Đo phổ hấp thụ ở 309,3 nm, dùng đèn cathod rỗng nhôm làm nguồn bức xạ và ngọn lửa nitro oxyd - acetylen.

Calci

Không được quá 0,9 %.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Lấy 5,0 ml dung dịch S₂, thêm 10,0 ml *acid hydrochloric* (TT), 10 ml dung dịch lanthan clorid (TT), và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước.

Các dung dịch đối chiếu: Lấy 4 bình định mức có dung tích 100 ml, mỗi bình có chứa 10,0 ml *acid hydrochloric* (TT) và 10 ml dung dịch lanthan clorid (TT), cho lần lượt vào mỗi bình 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml và 4,0 ml dung dịch calci mẫu 100 phần triệu (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước.

Đo phổ hấp thụ ở 422,7 nm, dùng đèn cathod rỗng calci làm nguồn bức xạ và ngọn lửa nitro oxyd - acetylen.

Sắt

Không được quá 0,25 %.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch S₁: Cân 10,0 g chế phẩm vào bình nón, vừa lắc vừa thêm từ từ 50 ml dung dịch *acid hydrochloric* 0,5 M (TT). Lắp ống sinh hàn ngược và đun nóng trên cách thủy trong 30 phút. Để nguội, chuyển hỗn hợp thu được sang cốc có mỏ và để lắng các chất không hòa tan. Lọc lớp dịch phía trên qua một giấy lọc có tốc độ lọc trung bình vào một bình định mức dung tích 100 ml, giữ lại trong cốc các chất không tan nhiều nhất có thể. Rửa cốc còn lại và cốc 3 lần, mỗi lần với 10 ml nước nóng. Rửa giấy lọc bằng 15 ml nước nóng, để nguội dịch lọc và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Lấy 2,5 ml dung dịch S₁, thêm 50,0 ml dung dịch *acid hydrochloric* 0,5 M (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước.

Các dung dịch đối chiếu: Lấy 4 bình định mức có dung tích 100 ml, mỗi bình có chứa 50,0 ml dung dịch *acid hydrochloric* 0,5 M, cho lần lượt vào mỗi bình 2,0 ml, 2,5 ml, 3,0 ml và 4,0 ml dung dịch sắt mẫu 250 phần triệu (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước.

Đo phổ hấp thụ ở 248,3 nm, dùng đèn cathod rỗng sắt làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen. Dùng đèn deuterium để hiệu chỉnh.

Chì

Không được quá 10 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch S₁.

Các dung dịch đối chiếu: Lấy 4 bình định mức có dung tích 100 ml, mỗi bình có chứa 50,0 ml dung dịch *acid hydrochloric* 0,5 M (TT), cho lần lượt vào mỗi bình 5,0 ml, 7,5 ml, 10,0 ml và 12,5 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT₁) và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước.

Đo phổ hấp thụ ở 217,0 nm, dùng đèn cathod rỗng chì làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Magnesi

17,0 % đến 19,5 %.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Pha loãng 0,5 ml dung dịch S₂ thành 100,0 ml bằng nước. Lấy 4,0 ml dung dịch thu được, thêm 10,0 ml *acid hydrochloric* (TT) và 10 ml dung dịch lanthan clorid (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước.

Các dung dịch đối chiếu: Lấy 4 bình định mức 100 ml, mỗi bình có chứa 10,0 ml *acid hydrochloric* (TT) và 10 ml dung dịch lanthan clorid (TT), thêm lần lượt vào mỗi bình 2,5 ml, 3,0 ml, 4,0 ml và 5,0 ml dung dịch magnesi mẫu 10 phần triệu (TT₁) và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước.

Đo phổ hấp thụ ở 285,2 nm, dùng đèn cathod rỗng magnesi làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Mất khối lượng do nung

Không được quá 7,0 %.

Nung 1,00 g chế phẩm ở 1050 °C đến 1100 °C đến khối lượng không đổi.

Giới hạn nhiễm khuẩn

Nếu chế phẩm dùng tại chỗ, tổng số vi sinh vật hiếu khí sống lại được (Phụ lục 13.6) không được quá 100 vi khuẩn hiếu khí và nấm trong 1 gam chế phẩm.

Nếu chế phẩm dùng đường uống, tổng số vi sinh vật hiếu khí sống lại được (Phụ lục 13.6) không được quá 1000 vi khuẩn hiếu khí và 100 nấm trong 1 gam chế phẩm.

Nhãn

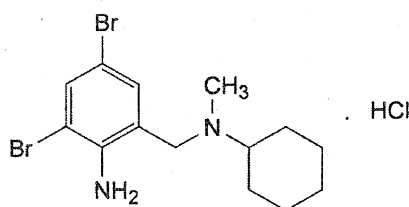
Nhãn ghi rõ dùng đường uống hay dùng tại chỗ.

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín.

Loại thuốc

Làm tá dược.

BROMHEXIN HYDROCLORID***Bromhexini hydrochloridum***

$C_{14}H_{21}Br_2ClN_2$

P.t.l: 412,6

Bromhexin hydroclorid là N-(2-amino-3,5-dibromobenzyl)-N-methylcyclohexanamin hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{14}H_{21}Br_2ClN_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình, rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol và dicloromethan.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của bromhexin hydroclorid chuẩn.

Nếu phổ đo ở trạng thái rắn mà khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong *methanol* (TT), bốc hơi đến khô và dùng cần để ghi phổ mới.

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

Bản mỏng: Silica gel F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - butanol (17 : 17 : 66).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg bromhexin hydroclorid chuẩn trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml với *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký đến khi dung môi chạy được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Để bản mỏng khô ngoài không khí. Quan sát sắc ký đồ dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Một vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí, kích thước

tương tự vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Hòa tan 25 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 10 %* (TT) và 50 ml *nước*. Thêm 2 ml *dicloromethan* (TT) và 5 ml *dung dịch cloramin T 2 %* (TT) rồi lắc. Ở lớp dưới, xuất hiện màu vàng hơi nâu.

D. Hòa tan khoảng 1 mg chế phẩm trong 3 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M*. Dung dịch thu được cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

E. Hòa tan khoảng 20 mg chế phẩm trong 1 ml *methanol* (TT), thêm 1 ml *nước*. Dung dịch thu được cho phản ứng (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn 0,5 ml *acid phosphoric* (TT) với 950 ml *nước*; điều chỉnh pH đến 7,0 bằng *triethylamin* (TT) (khoảng 1,5 ml); pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*. Trộn 20 thể tích của dung dịch này với 80 thể tích *acetonitril* (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg tạp chất chuẩn C của bromhexin hydroclorid trong *methanol* (TT), thêm 1,0 ml dung dịch thử rồi pha loãng thành 10,0 ml với *methanol* (TT).

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

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (12 cm $\times$ 4,6 mm), chất nhồi *octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 248 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

Thời gian chạy sắc ký: Bằng 2,5 lần thời gian lưu của bromhexin.

Thời gian lưu tương đối: Tính theo bromhexin (thời gian lưu khoảng 11 phút) thì tạp chất A khoảng 0,1; tạp chất B khoảng 0,2; tạp chất C khoảng 0,4 và tạp chất D khoảng 0,5.

Tính thích hợp của hệ thống:

Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1): Độ phân giải giữa các pic của tạp chất C và bromhexin tối thiểu phải là 12,0.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: Diện tích của bất kỳ pic nào ngoài pic chính cũng không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %); tối đa chỉ có một pic có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %). Tổng diện tích của tất cả các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %); bỏ qua các pic có diện tích

bằng và nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (2-amino-3,5-dibromophenyl)methanol.

Tạp chất B: 2-amino-3,5-dibromobenzaldehyd.

Tạp chất C: *N*-(2-aminobenzyl)-*N*-methylcyclohexanamin.

Tạp chất D: *N*-(2-amino-5-bromobenzyl)-*N*-methylcyclohexanamin.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 70 ml *ethanol* 96% (TT), thêm 1 ml *dung dịch acid hydrochloric* 0,1 M (TT). Tiến hành chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CĐ). Tính thể tích của dung dịch chuẩn độ tiêu thụ giữa 2 điểm uốn của đường cong chuẩn độ.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CĐ) tương đương với 41,26 mg $C_{14}H_{21}Br_2ClN_2$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng

Loại thuốc

Long đờm.

VIÊN NÉN BROMHEXIN HYDROCLORID

Tabellae Bromhexini hydrochloridi

Là viên nén chứa bromhexin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng bromhexin hydroclorid,

$C_{14}H_{20}Br_2N_2.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm có các hấp thụ cực đại ở khoảng 249 nm và 310 nm.

B. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Khuấy kỹ một lượng bột viên tương đương với khoảng 25 mg bromhexin hydroclorid trong hỗn hợp gồm 1 ml *acid sulfuric loãng* (TT) và 50 ml *nước*. Lọc, thêm vào dịch lọc 2 ml *methylen clorid* (TT) và 5 ml *dung dịch cloramin T* 2 % (TT). Lắc, màu vàng nâu xuất hiện ở lớp dưới.

D. Lấy một lượng bột viên tương đương với khoảng 1 mg bromhexin hydroclorid trong 3 ml *dung dịch acid hydrochloric* 0,1 M (TT). Dung dịch cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethanol (9 : 1).

Dung dịch thử (1): Cân một lượng bột viên tương ứng với 50 mg bromhexin hydroclorid, thêm 5 ml *methanol* (TT), lắc 10 phút, ly tâm. Sử dụng dịch trong ở trên.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử (1) thành 5 thể tích với *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 0,5 thể tích dung dịch thử (2) thành 40 thể tích với *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch bromhexin hydroclorid chuẩn 0,2 % trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Đặt vào bình kín có chứa dung dịch *natri nitrit* 10 % trong *acid hydrochloric* 5 M (TT) mới pha, để yên 1 phút. Lấy bản mỏng ra và phun ngay lập tức dung dịch *N*-(1-naphthyl)-ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % trong *methanol* (TT).

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1).

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Nghiền 1 viên trong cối với *ethanol* 96 % (TT), dùng cùng dung môi chuyển vào bình định mức 50 ml, làm ấm trên cách thủy 15 phút, thỉnh thoảng lắc, để nguội, pha loãng với *ethanol* 96 % (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu, pha loãng một phần dịch lọc thành dung dịch có nồng độ khoảng 0,002 % bromhexin hydroclorid với *ethanol* 96 % (TT). Tiếp tục tiến hành như mô tả ở mục Định lượng, bắt đầu từ “Đo độ hấp thụ ...”.

Định lượng

Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg bromhexin hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *ethanol* 96 % (TT), làm ấm trên cách thủy 15 phút, thỉnh thoảng lắc, để nguội, pha loãng với *ethanol* 96 % (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch

lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml với *ethanol* 96 % (TT), lắc đều. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng 249 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là *ethanol* 96 % (TT).

Tính hàm lượng bromhexin hydroclorid, $C_{14}H_{20}Br_2N_2.HCl$, trong viên theo A (1 %, 1 cm), lấy 270 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 249 nm.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

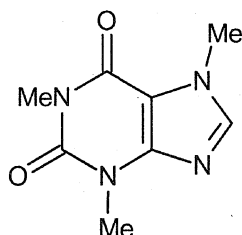
Long đờm, tiêu chất nhầy.

Hàm lượng thường dùng

4 mg; 8 mg.

CAFEIN

Caffeinum



$C_8H_{10}N_4O_2$ (khan)

P.t.l: 194,2

$C_8H_{10}N_4O_2 \cdot H_2O$ (monohydrat)

P.t.l: 212,2

Cafein là 1,3,7-trimethyl-3,7-dihydro-1H-purin-2,6-dion, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_8H_{10}N_4O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể trắng, mịn, hay bột kết tinh trắng. Vụn nát ngoài không khí khô, đun nóng ở 100 °C cafein sẽ mất nước và thăng hoa ở khoảng 200 °C. Dung dịch cafein có phản ứng trung tính với giấy quỳ. Dễ tan trong nước sôi, cloroform, hơi tan trong nước, khó tan trong *ethanol* và ether, tan trong các dung dịch acid và trong các dung dịch đậm đặc của benzoat hay salicylat kiềm.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cafein chuẩn. Xác định trên chế phẩm đã làm khô.

B. Điểm chảy: 234 °C đến 239 °C (Phụ lục 6.7).

Xác định trên chế phẩm đã làm khô.

C. Cho 0,05 ml *dung dịch iot - iodid* (TT) vào 2 ml *dung dịch bão hòa cafein*. *Dung dịch vẫn trong*. Thêm 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng* (TT). Có tủa

nâu xuất hiện, tủa này tan khi trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT).

D. Cho phản ứng của nhóm xanthin (Phụ lục 8.1).

E. Chế phẩm đáp ứng phép thử mất khối lượng do làm khô.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 50 ml *nước không có carbon dioxyd* (TT) bằng cách đun nóng, làm nguội và pha loãng thành 50 ml với cùng *dung môi*.

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

Giới hạn acid

Thêm 0,05 ml *dung dịch xanh bromothymol* (TT) vào 10 ml *dung dịch S*. *Dung dịch* có màu xanh lục hay vàng. Màu của *dung dịch* sẽ chuyển thành xanh lam khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M* (CĐ).

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - *aceton* - *methylen clorid* - *butanol* (10 : 30 : 30 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong hỗn hợp *dung môi methanol* - *methylen clorid* (4 : 6) và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp *dung môi*.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,5 ml *dung dịch thử* thành 100 ml với hỗn hợp *dung môi* trên.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi *dung dịch* trên. Triển khai sắc ký đến khi *dung môi* đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết nào ngoài vết chính trên sắc ký đồ của *dung dịch thử* không được có màu đậm hơn vết trên sắc ký đồ của *dung dịch đối chiếu* (0,5 %).

Sulfat

Không được quá 0,05 %. (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 15 ml *dung dịch S* tiến hành thử. Để chuẩn bị mẫu đối chiếu lấy 7,5 ml *dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu* (TT) và thêm *nước* vừa đủ 15 ml.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 5,0 % đến 9,0 % (đối với cafein monohydrat) và không được quá 0,5 % (đối với cafein khan). (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 1 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 150 mg chế phẩm đã làm khô. Hòa tan trong 15 ml *anhydrid acetic* (TT) và 20 ml *benzen* (TT). Cho thêm vài giọt *dung dịch tím tinh thể* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) cho đến khi dung dịch chuyển sang màu vàng. Có thể xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 19,42 mg $C_8H_{10}N_4O_2$.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín.

Loại thuốc

Kích thích thần kinh trung ương, lợi tiểu.

Chế phẩm

Viên nén aspirin và cafein; thuốc tiêm cafein-natri benzoat, thuốc tiêm cafein-natri salicylat.

THUỐC TIÊM CAFEIN VÀ NATRI BENZOAT***Injectio Coffeini et Natrii benzoas***

Là dung dịch vô khuẩn có chứa cafein và natri benzoat trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

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

Hàm lượng natri benzoat, $C_7H_5NaO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của căn thu được trong phần định lượng phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cafein chuẩn đối chiếu.

B. Dùng một dây bạch kim hay đũa thủy tinh nhúng vào dung dịch chế phẩm, đưa vào ngọn lửa không màu, ngọn lửa sẽ nhuộm thành màu vàng.

C. Lấy 0,5 ml dung dịch chế phẩm, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 %* (TT), sẽ xuất hiện tủa màu hồng.

D. Lấy 5 ml dung dịch chế phẩm, thêm 0,3 ml *acid hydrochloric* (TT), sẽ xuất hiện tủa trắng.

pH

Từ 6,5 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).

Nội độc tố vi khuẩn

Không quá 0,7 đơn vị Endotoxin USP trong 1 mg, tính theo tổng số mg cafein và natri benzoat ghi trên nhãn (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Cafein: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương đương với khoảng 0,21 g cafein vào một bình gan nhỏ, thêm 5 ml *nước*, 1 giọt *dung dịch phenolphthalein* (TT) làm chỉ thị và nhỏ từng giọt *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (TT) tới màu hồng bền vững. Chiết hỗn hợp bằng *cloroform* (TT) ít nhất 3 lần, mỗi lần 20 ml, lọc mỗi dịch chiết cloroform qua phễu lọc đã thấm ướt trước bằng *cloroform* (TT), cho vào một chén đã cân bì (giữ lại lớp nước để định lượng natri benzoat). Rửa bình gan, phễu lọc trên với 10 ml *cloroform* (TT) nóng, tập trung vào chén rồi làm bay hơi cloroform trên cách thủy. Thêm 2 ml *ethanol* (TT) vào chén trước khi cloroform bay hơi hết. Tiếp tục làm bay hết dung môi, sấy căn $C_8H_{10}N_4O_2$ ở 80 °C trong 4 giờ, để nguội và cân.

Natri benzoat: Cho 75 ml *ether* (TT) và 5 giọt *dung dịch methyl da cam* (TT) làm chỉ thị vào lớp nước thu được ở phần định lượng cafein, chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrochloric 0,1 N* (CĐ), vừa nhỏ vừa lắc mạnh đến khi xuất hiện màu hồng bền vững trong lớp nước.

1 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 14,41 mg $C_7H_5NaO_2$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng trực tiếp.

Loại thuốc

Kích thích thần kinh trung ương, lợi tiểu.

Hàm lượng thường dùng

250 mg cafein và 350 mg natri benzoat trong 1 ml chế phẩm.

CALCI CARBONAT***Calcii carbonas***

$CaCO_3$

P.t.l: 100,1

Calci carbonat phải chứa từ 98,5 % đến 100,5 % $CaCO_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột mịn trắng, không mùi.

Thực tế không tan trong nước, ethanol 96 % và ether. Tan trong các dung dịch acid loãng kèm theo sủi bọt khí carbon dioxyd.

Định tính

A. Thêm 5 ml *acid acetic loãng* (TT) vào 0,1 g chế phẩm, phải có sủi bọt khí carbon dioxyd. Khí thoát ra được dẫn vào *dung dịch calci hydroxyd* (TT) sẽ xuất hiện kết tủa trắng, tủa này tan trong *dung dịch acid hydrochloric 7 M* (TT) quá thừa.

B. Để yên dung dịch trên cho đến khi sủi hết bọt, thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch amoni oxalat 4 %* (TT), phải xuất hiện tủa trắng, tủa này không tan trong *dung*

dịch acid acetic 6 M (TT), tan trong dung dịch acid hydrochloric loãng (TT).

Chất không tan trong acid acetic

Không được quá 0,2 %.

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 80 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT), sau khi sủi hết bọt, đun sôi dung dịch trong 2 phút. Để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng dung dịch acid acetic 2 M (TT), lọc qua phễu thủy tinh xốp, giữ lại dịch lọc (dung dịch S) để tiến hành các thử nghiệm sau. Rửa cặn trên phễu 4 lần, mỗi lần với 5 ml nước nóng và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 1 giờ, khối lượng cặn còn lại không được nhiều hơn 10 mg.

Clorid

Không được quá 0,033 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 3 ml dung dịch S, pha loãng bằng nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,25 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 1,2 ml dung dịch S, pha loãng bằng nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Arsen

Không được quá 4 phần triệu. (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 5,0 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp A.

Bari

Thêm 10 ml dung dịch calci sulfat (TT) vào 10 ml dung dịch S. Sau 15 phút dung dịch thử không được đục hơn một hỗn hợp gồm 10 ml dung dịch S và 10 ml nước.

Sắt

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.13).

Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml dung dịch acid hydrochloric loãng (TT) và pha loãng thành 10 ml bằng nước để tiến hành thử.

Magnesi và các kim loại kiềm

Không được quá 1,5 %.

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 12 ml dung dịch acid hydrochloric loãng (TT), đun sôi trong 2 phút và thêm 20 ml nước, 1 g amoni clorid (TT) và 0,1 ml dung dịch đỏ methyl (TT). Thêm từng giọt dung dịch amoniac 10 % (TT) cho đến khi dung dịch chuyển màu và sau đó thêm tiếp 2,0 ml dung dịch amoniac 10 % (TT). Đun đến sôi và thêm 50 ml dung dịch amoni oxalat 4 % (TT) nóng. Để yên 4 giờ, sau đó pha loãng thành 100 ml bằng nước và lọc. Thêm 0,25 ml acid sulfuric đậm đặc (TT) vào 50 ml dịch lọc và đun cách thủy cho đến khô. Nung cặn đến khối lượng không đổi ở 600 °C. Lượng cặn thu được không được nhiều hơn 7,5 mg.

Kim loại nặng

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

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

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 200 °C ± 10 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 3 ml dung dịch acid hydrochloric loãng (TT) và 20 ml nước. Đun sôi 2 phút, để nguội và pha loãng thành 50 ml bằng nước. Tiến hành chuẩn độ theo phương pháp định lượng calci bằng chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

1 ml dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ) tương đương với 10,01 mg CaCO₃.

Bảo quản

Đựng trong chai lọ nút kín, ở nơi khô ráo.

Tương kỵ

Với acid.

Loại thuốc

Kháng acid, bổ sung chất điện giải.

Chế phẩm

Viên nén calci carbonat và vitamin D, viên nhai calci carbonat.

VIÊN NÉN CALCI VÀ VITAMIN D

Tabellae Calcii carbonatis et Vitamini D

Là viên nén, hay viên bao, chứa calci carbonat và coledalciferol.

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

Hàm lượng calci, Ca, từ 85,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng coledalciferol, C₂₇H₄₄O, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng, hay viên bao màu đồng nhất.

Định tính

A. Cân một lượng bột viên tương ứng với 40 mg calci, thêm 10 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT), có sủi bọt khí. Thêm 10 ml nước, lắc kỹ, lọc. Dịch lọc cho các phản ứng đặc trưng của ion calci (Phụ lục 8.1).

B. Trong phần Định lượng coledalciferol, thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic coledalciferol trong sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Định lượng**Định lượng calci**

Cân 20 viên (đã loại bỏ lớp vỏ bao, nếu là viên bao), nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg calci, thêm 50 ml nước và 5 ml acid hydrocloric (TT). Đun nhẹ tới sôi và tiếp tục đun sôi trong 2 phút. Để nguội, thêm 50,0 ml dung dịch natri edetat 0,05 M (CD). Trung hòa với dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), thêm 10 ml dung dịch đệm amoniac pH 10,0 (TT) và 50 ml nước. Chuẩn độ natri edetat thừa bằng dung dịch kẽm clorid 0,05 M (CD), dùng dung dịch đen eriocrom T (TT) làm chỉ thị.

1 ml dung dịch natri edetat 0,05 M (CD) tương ứng với 2,004 mg Ca.

Định lượng coledalciferol

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: Methanol - nước (97 : 3).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch coledalciferol chuẩn trọng methanol (TT), có nồng độ chính xác khoảng 20 đơn vị quốc tế/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 2000 đơn vị quốc tế coledalciferol vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml methanol 90 %, lắc trong 5 phút, rồi để siêu âm 5 phút. Thêm methanol 90 % vừa đủ đến vạch, lắc đều. Ly tâm và lọc. Sử dụng dịch lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 264 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min

Thể tích tiêm: 50 µl.

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

Tính hàm lượng coledalciferol, C₂₇H₄₄O, trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic coledalciferol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ C₂₇H₄₄O của dung dịch chuẩn.

Ghi chú: Phương pháp này không áp dụng cho viên sản xuất từ nguyên liệu vi nang.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Bổ sung calci và vitamin D.

Hàm lượng thường dùng

Calci 500 mg và vitamin D 200 IU.

CALCI CLORID DIHYDRAT**Calcii chloridum dihydricum**

CaCl₂ · 2H₂O

P.t.l: 147,0

Calci clorid dihydrat phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % CaCl₂·2H₂O.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Dung dịch S cho phản ứng (A) trong phần định tính ion clorid (Phụ lục 8.1).

B. Chế phẩm cho các phản ứng định tính của ion calci (Phụ lục 8.1).

C. Chế phẩm phải đáp ứng các chỉ tiêu giới hạn trong phần định lượng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của dung dịch màu chuẩn V₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 10 ml dung dịch S mới pha, thêm 0,1 ml dung dịch phenolphthalein (TT). Nếu dung dịch có màu đỏ, thêm 0,2 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CD), dung dịch phải mất màu. Nếu dung dịch không màu, nó phải chuyển sang màu đỏ khi thêm không quá 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CD).

Sulfat

Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 5 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 15 ml để thử.

Nhôm

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 2 ml dung dịch amoni clorid 10 % (TT) và 1 ml dung dịch amoniac loãng (TT). Đun sôi dung dịch. Dung dịch không được vẩn đục hay tạo tủa.

Nếu chế phẩm dùng để pha các dung dịch thẩm tích thì nó phải đạt yêu cầu phép thử sau đây thay cho phép thử trên: Tối đa 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.9).

Dung dịch thử: Hòa tan 4 g chế phẩm trong 100 ml nước, thêm 10 ml dung dịch đệm acetat pH 6,0.

Dung dịch đối chiếu: Trộn 2 ml dung dịch nhôm mẫu (2 phần triệu), 10 ml dung dịch đệm acetat pH 6,0 và 98 ml nước.

Dung dịch mẫu trắng: Trộn 10 ml dung dịch đệm acetat pH 6,0 với 100 ml nước.

Bari

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 1 ml dung dịch calci sulfat (TT). Sau ít nhất 15 phút, dung dịch không được đục hơn dung dịch gồm 10 ml dung dịch S và 1 ml nước.

Kim loại nặng

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

Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp I. Dùng *dung dịch chỉ mẫu 2 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 10 ml dung dịch S để thử.

Magnesi và các kim loại kiềm

Không được quá 0,5 %.

Lấy 20 ml dung dịch S, thêm 80 ml nước, 2 g *amoni clorid (TT)* và 2 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*.

Đun sôi. Rót vào dung dịch đang sôi này một dung dịch đang nóng gồm 5 g *amoni oxalat (TT)* đã hòa tan trong 75 ml nước. Để yên trong 4 giờ. Pha loãng thành 200 ml bằng nước rồi lọc. Lấy 100 ml dịch lọc, thêm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)*. Bốc hơi cách thủy đến khô rồi nung ở 600 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cặn không quá 5 mg.

Định lượng

Hòa tan 0,280 g chế phẩm trong 100 ml nước và tiến hành định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CD)* tương đương với 14,70 mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Loại thuốc

Khoáng chất.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM CALCI CLORID 10 %

Injectio Calcii chloridi 10 %

Là dung dịch vô khuẩn của calci clorid trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng calci clorid, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ từ 95,0 % đến 105,0 % so với hàm lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

A. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm vài giọt *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)*, tạo thành tủa trắng, tủa này ít tan trong *dung dịch acid acetic 6 M (TT)*, tan trong *acid hydrocloric (TT)*.

B. Dung dịch chế phẩm cho các phản ứng của clorid (Phụ lục 8.1).

pH

5,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương đương với 0,3 g calci clorid, cho vào bình nón 500 ml, pha loãng với nước thành 300 ml. Thêm 6 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*, 15 mg *hỗn hợp calcon (TT)* làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CD)* đến khi màu của dung dịch chuyển từ tím sang xanh hoàn toàn.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CD)* tương đương với 14,7 mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Bảo quản

Nơi khô mát.

Loại thuốc

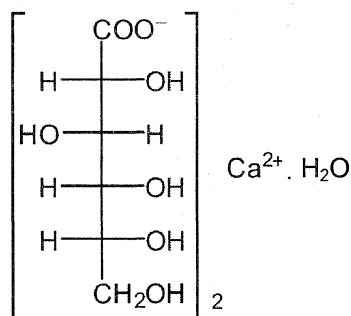
Điều trị giảm calci huyết.

Hàm lượng thường dùng

Dung dịch tiêm 10 %.

CALCI GLUCONAT

Calcii gluconas



P.t.l: 448,4

Calci gluconat là calci D-gluconat monohydrat, phải chứa từ 98,5 % đến 102,0 % $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{CaO}_{14} \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Tính chất, định tính, tạp chất hữu cơ và acid boric, sacarose và các đường khử, định lượng

Tiến hành theo chuyên luận calci gluconat để pha thuốc tiêm.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước đã được đun nóng đến 60 °C và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Ở 60 °C màu của dung dịch S không được đậm hơn màu mẫu V₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2) và sau khi để nguội, dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2).

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 12,5 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.14).

Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *acid acetic* (TT) và 90 ml *nước* bằng cách đun nóng. Lấy 15 ml dung dịch này tiến hành thử.

Kim loại nặng

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

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 4. Đun nóng dần dần và cẩn thận chế phẩm cho tới khi chuyển hoàn toàn thành khối màu trắng và sau đó nung.

Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Magnesi và các kim loại kiềm thổ

Không được quá 0,4 % (Phụ lục 9.4.16).

Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong 100 ml *nước* sôi, thêm 10 ml *dung dịch amoni clorid 10 %* (TT), 1 ml *amoniac* (TT) và thêm từng giọt 50 ml *dung dịch amoni oxalat 4 %* (TT) nóng. Để yên 4 giờ, pha loãng thành 200 ml bằng *nước* và lọc. Bốc hơi 100 ml dịch lọc đến khô và nung. Cần thu được không được quá 2 mg.

Độ nhiễm khuẩn

Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không được quá 1000 trên 1 g chế phẩm, xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6).

Bảo quản

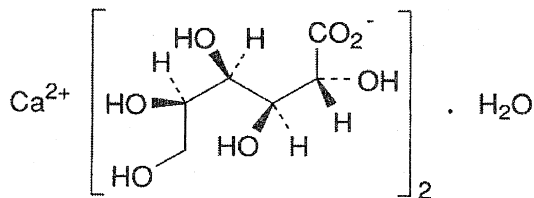
Trong bao bì nút kín.

Loại thuốc

Điều trị bệnh thiếu calci.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén, viên sủi bọt.

CALCI GLUCONAT ĐỀ PHA THUỐC TIÊM***Calcii gluconas ad injectabile***

P.t.l: 448,4

Calci gluconat đề pha thuốc tiêm phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{CaO}_{14} \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc dạng hạt, hơi tan trong nước, dễ tan trong nước sôi.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - amoniac đậm đặc - nước - ethanol 96 % (10 : 10 : 30 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 1 ml *nước*, đun nóng nếu cần trong nồi cách thủy ở 60 °C.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg calci gluconat chuẩn trong 1 ml *nước*, đun nóng nếu cần trong nồi cách thủy ở 60 °C.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được một khoảng 10 cm. Lấy bản mỏng ra, sấy ở 100 °C trong 20 phút. Để nguội. Phun lên bản mỏng *dung dịch kali dicromat 5 %* trong *dung dịch acid sulfuric 40 %* (kl/kl). Sau 5 phút, quan sát sắc ký đồ. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí, màu sắc và kích thước tương tự vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Dung dịch S (xem phần dưới) cho các phản ứng của calci (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Thêm 90 ml *nước* sôi vào 10,0 g chế phẩm và vừa đun sôi vừa khuấy trong vòng 10 giây để chế phẩm tan hoàn toàn, pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Ở 60 °C, dung dịch S không được có màu đậm hơn màu của dung dịch mẫu N₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2). Sau khi làm lạnh đến 20 °C, dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2).

pH

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 20,0 ml *nước không có carbon dioxyd* (TT) bằng cách đun nóng trên nồi cách thủy. pH của dung dịch từ 6,4 đến 8,3 (Phụ lục 6.2).

Các tạp chất hữu cơ và acid boric

Lấy 0,5 g chế phẩm cho vào một chén sứ đã được tráng trước bằng *acid sulfuric* (TT) và đặt trong nước đá. Thêm 2 ml *acid sulfuric* (TT) đã làm lạnh trước và trộn đều. Không được xuất hiện màu vàng hoặc màu nâu. Thêm 1 ml *dung dịch chromotrop II B* (TT). Xuất hiện màu tím và không được chuyển sang màu xanh đậm. Dung dịch này không được có màu đậm hơn hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch chromotrop II B* (TT) và 2 ml *acid sulfuric* (TT) đã được làm lạnh trước.

Oxalat

Không được quá 100 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 0,212 g *natri carbonat khan* (TT) và 63 mg *natri hydrocarbonat* (TT) trong *nước dùng cho sắc ký* (TT) và pha loãng thành 1000,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *nước dùng cho sắc ký* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *nước dùng cho sắc ký* (TT), thêm 0,5 ml *dung dịch*

natri oxalat 0,0152 % trong nước dùng cho sắc ký và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột bảo vệ (30 mm × 4 mm) được nhồi bằng nhựa trao đổi anion mạnh thích hợp (30 µm đến 50 µm).

Hai cột phân tích, mỗi cột (25 cm × 4 mm) được nhồi bằng nhựa trao đổi anion mạnh thích hợp (30 µm đến 50 µm)

Cột khử anion - vi màng được mắc nối tiếp với cột bảo vệ và các cột phân tích. Cột khử anion được gắn với vi màng để tách pha động khỏi dung dịch tái sinh chất khử; dung dịch này chảy ngược dòng với pha động với tốc độ 4 ml/min.

Dung dịch tái sinh chất khử là *dung dịch acid sulfuric* 0,123 % trong nước dùng cho sắc ký.

Detector: Điện dẫn

Tốc độ dòng: 2 ml/min

Thể tích tiêm: 50 µl

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch chuẩn 5 lần. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic oxalat trên sắc ký đồ thu được không quá 2,0 %.

Tiêm dung dịch chuẩn, dung dịch thử, mỗi dung dịch 3 lần. Tính hàm lượng oxalat (phần triệu) bằng công thức:

$$\frac{St \times 50}{Sr - St}$$

S_t là diện tích trung bình các pic oxalat trên sắc ký đồ của dung dịch thử;

S_r là diện tích trung bình các pic oxalat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn;

Saccharose và các đường khử

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong một hỗn hợp gồm 2 ml *dung dịch acid hydrochloric* 25 % (TT) và 10 ml nước. Đun sôi trong 5 phút. Để nguội. Thêm 10 ml *dung dịch natri carbonat* 10 % (TT) và để yên 10 phút. Pha loãng với nước thành 25 ml và lọc. Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 2 ml *thuốc thử Fehling* (TT) và đun sôi trong 1 phút. Để yên 2 phút. Không được tạo tủa đỏ.

Clorid

Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Thêm vào 10 ml dung dịch S đã được lọc trước với 5 ml nước và tiến hành thử.

Phosphat

Không được quá 100 phần triệu (Phụ lục 9.4.12).

Lấy 1 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 100 ml để thử.

Sulfat

Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 15 ml dung dịch S đã được lọc để thử. Dùng hỗn hợp gồm 7,5 ml *dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu* (TT) và 7,5 ml nước để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 5 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Lấy 2,0 g chế phẩm cho vào cốc có mỏ polytetrafluoroethylen dung tích 100 ml. Thêm 5 ml *acid nitric* (TT). Đun sôi, bay hơi đến gần khô. Thêm 1 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc* (TT) và lại bay hơi đến gần khô. Lặp lại quá trình xử lý bằng hydrogen peroxyd đến khi thu được dung dịch trong. Dùng 2 ml *acid nitric* (TT) để chuyển toàn bộ dung dịch trên vào bình định mức dung tích 25 ml. Pha loãng thành 25,0 ml bằng *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT).

Dung dịch mẫu trắng: Chuẩn bị giống như dung dịch thử nhưng dùng 0,65 g *calci clorid tetrahydrat* (TT) thay cho chế phẩm.

Các dung dịch chuẩn: Từ *dung dịch sắt mẫu 20 phần triệu* (TT), pha loãng bằng *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT) để thu được các dung dịch chuẩn.

Đo độ hấp thụ ở 248,3 nm, dùng đèn sắt cathod rộng làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen. Dùng đèn deuterium để tiến hành hiệu chỉnh đường nền.

Kim loại nặng

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

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

Magnesi và các kim loại kiềm

Không được quá 0,4 %.

Lấy 0,5 g chế phẩm, thêm 10 ml nước và 1,0 ml *acid acetic loãng* (TT). Đun sôi nhanh, vừa đun vừa lắc cho đến khi tan hoàn toàn. Thêm vào dung dịch đang sôi 5,0 ml *dung dịch amoni oxalat* 4 % (TT) rồi để yên ít nhất 6 giờ. Lọc qua phễu lọc thủy tinh xốp (độ xốp 1,6) vào một chén sứ. Bốc hơi cẩn thận dịch lọc đến khô rồi nung. Khối lượng cặn không được quá 2 mg.

Độ nhiễm khuẩn

Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không quá 100 trong 1 g chế phẩm, xác định bằng phương pháp đĩa thạch.

Chế phẩm không được có *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Staphylococcus aureus* (Phụ lục 13.6).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 167 IU trong 1 g chế phẩm (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Hòa tan 0,350 g chế phẩm trong 20 ml nước nóng. Để nguội rồi pha loãng thành 300 ml với nước. Tiến hành

định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5). Dùng 50 mg *hỗn hợp calcon (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 44,84 mg $C_{12}H_{22}CaO_{14}.H_2O$.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Thuốc bổ sung calci.

Chế phẩm

Dùng để pha các chế phẩm thuốc tiêm có chứa calci gluconat.

THUỐC TIÊM CALCI GLUCONAT

Injectio Calcii gluconatis

Là dung dịch vô khuẩn của calci gluconat để pha thuốc tiêm trong nước để pha thuốc tiêm. Không quá 5,0 % lượng calci gluconat có thể được thay thế bằng các muối calci thích hợp làm chất ổn định.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng calci, Ca, từ 8,5 % đến 9,4 % so với lượng calci gluconat, $C_{12}H_{22}O_{14}Ca.H_2O$, ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu. Nếu có màu, không được đậm hơn màu mẫu N₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Định tính

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

Bàn mỏng, dung môi khai triển, dung dịch đối chiếu và cách tiến hành: Như mô tả ở mục Định tính trong chuyên luận “Calci gluconat để pha thuốc tiêm”.

Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm với nước để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 20 mg calci gluconat/ml.

B. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 0,05 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, xuất hiện màu vàng đậm.

C. Chế phẩm cho các phản ứng đặc trưng của ion calci (Phụ lục 8.1).

Nội độc tố vi khuẩn

Phải đạt yêu cầu thử nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2).

Nếu cần, pha loãng chế phẩm với nước BET để thu được dung dịch có nồng độ 100 mg calci gluconat/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 16,7 IU/ml. Tiến hành thử, sử dụng độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của lysat dùng trong phép thử.

Định lượng

Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 0,5 g calci gluconat, tiến hành định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Bổ sung calci.

Hàm lượng thường dùng

10 %.

CALCI GLYCEROPHOSPHAT

Calcii glycerophosphas

$C_3H_7CaO_6P$

P.t.l: 210,1

Calci glycerophosphat là hỗn hợp với tỷ lệ thay đổi của calci (RS)-2,3-dihydroxypropyl phosphat và calci 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl phosphat có thể được ngâm nước, phải chứa từ 18,6 % đến 19,4 % Ca, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng, dễ hút ẩm, hơi tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96%.

Định tính

A. Trộn 1 g chế phẩm với 1 g *kali hydrosulfat (TT)* trong một ống nghiệm được nối với ống thủy tinh. Đun nóng mạnh và dẫn khói trắng bay ra cho tiếp xúc với một mẫu giấy lọc đã được tẩm *dung dịch natri nitroprusiat 1 %* vừa mới pha. Giấy lọc này sẽ xuất hiện màu xanh khi tiếp xúc với *piperidin (TT)*.

B. Nung 0,1 g chế phẩm trong một chén nung. Tầm ướt cân bằng 5 ml *acid nitric (TT)* và đun nóng trên cách thủy 1 phút. Lọc. Dịch lọc cho phản ứng của ion phosphat (Phụ lục 8.1).

C. Chế phẩm phải cho phản ứng B của ion calci (Phụ lục 8.1).

Độ trong của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,5 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 150 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu III (Phụ lục 9.2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* vào 100 ml dung dịch S. Không được dùng quá 1,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (CĐ)* hoặc 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* để làm thay đổi màu của chỉ thị.

Acid citric

Lắc 5,0 g chế phẩm với 20 ml nước không có carbon dioxyd (TT) và lọc. Thêm 0,15 ml acid sulfuric (TT) vào dịch lọc và lọc tiếp. Thêm 5 ml dung dịch thủy ngân (II) sulfat (TT) vào dịch lọc, đun cho đến sôi. Thêm 0,5 ml dung dịch kali permanganat 0,32 % và lại đun đến sôi. Không được có tủa tạo thành.

Glycerin và các chất tan trong ethanol 96 %

Không được quá 0,5 %.

Lắc 1,000 g chế phẩm với 25 ml ethanol 96 % (TT) trong 1 phút. Lọc. Làm bay hơi dịch lọc cho đến khô trên nồi cách thủy và sấy căn ở 70 °C trong 1 giờ. Căn thu được không được quá 5 mg.

Clorid

Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.4.5).

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 2 ml acid acetic (TT) và 8 ml nước, pha loãng thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Phosphat

Không được quá 0,04 % (Phụ lục 9.4.12).

Pha loãng 2,5 ml dung dịch S thành 100 ml bằng nước để thử.

Sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 15 ml dung dịch S để thử.

Arsen

Không được quá 3 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Hòa tan 0,33 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Thử theo phương pháp A.

Kim loại nặng

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

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 10 ml dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT) và pha loãng với nước vừa đủ 20 ml. Lấy 12 ml dung dịch trên thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chì mẫu 2 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 0,2 g chế phẩm tiến hành thử.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 150 °C; 4 h).

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong nước và tiến hành định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

1 ml dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ) tương đương với 4,008 mg Ca.

Bảo quản

Trong lọ kín.

CALCI HYDROXYD

Calcii hydroxydum

Ca(OH)₂

P.t.l: 74,09

Calci hydroxyd phải chứa từ 95,0 % đến 100,5 % Ca(OH)₂.

Tính chất

Bột mịn, trắng, thực tế không tan trong nước.

Định tính

A. Thêm 10 ml nước và 0,5 ml dung dịch phenolphthalein (TT) vào 0,80 g chế phẩm trong cối, trộn đều. Hỗn dịch thu được có màu đỏ. Thêm 17,5 ml dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT), hỗn dịch trở thành không màu và không sủi bọt. Màu đỏ xuất hiện trở lại khi hỗn hợp trên được nghiền trong 1 phút. Thêm tiếp 6 ml dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT) và nghiền, dung dịch này lại trở thành không màu.

B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong dung dịch acid hydrochloric loãng (TT) và pha loãng với nước thành 10 ml. 5 ml dung dịch này cho phản ứng đặc trưng của ion calci (Phụ lục 8.1).

Chất không tan trong acid hydrochloric

Không được quá 0,5 %.

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 30 ml acid hydrochloric (TT). Đun sôi dung dịch và lọc. Rửa căn với nước nóng và nung căn đến khối lượng không đổi, cân. Khối lượng căn không được quá 10 mg.

Carbonat

Không được quá 5,0 % CaCO₃.

Thêm 5,0 ml dung dịch acid hydrochloric 1 N (CĐ) vào dung dịch đã được chuẩn độ ở mức định lượng và chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ), dùng 0,5 ml dung dịch da cam methyl (TT) làm chỉ thị.

1 ml dung dịch acid hydrochloric 1 N (CĐ) tương đương với 50,05 mg CaCO₃.

Clorid

Không được quá 0,033 % (Phụ lục 9.4.5).

Hòa tan 0,30 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 2 ml acid nitric (TT) và 10 ml nước, sau đó pha loãng thành 30 ml bằng nước. Lấy 15 ml dung dịch này tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,4 % (Phụ lục 9.4.14).

Hòa tan 0,15 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml dung dịch acid hydrochloric loãng (TT) và 10 ml nước, sau đó pha loãng thành 60 ml bằng nước. Lấy 15 ml dung dịch này tiến hành thử.

Arsen

Không được quá 4 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 5 ml dung dịch acid hydrochloric đã brom hóa (TT) và pha loãng thành

50 ml bằng nước. Lấy 25 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp A.

Magnesi và các kim loại kiềm

Không được quá 4,0 % (tính theo sulfat).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml acid hydrochloric (TT) và 40 ml nước. Đun sôi, thêm 50 ml dung dịch acid oxalic 6,3 % (TT). Trung hòa với amoniac (TT) và pha loãng thành 200 ml bằng nước. Để yên 1 giờ và lọc qua dụng cụ lọc thích hợp. Lấy 100 ml dịch lọc, thêm 0,5 ml acid sulfuric (TT), bốc hơi cẩn thận đến khô và nung đến khối lượng không đổi. Khối lượng cặn không được quá 20 mg.

Kim loại nặng

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

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml dung dịch acid hydrochloric 25 % (TT) và bốc hơi đến khô trên cách thủy. Hòa tan cặn trong 20 ml nước và lọc. Lấy 12 ml dịch lọc tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch ion chì mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Định lượng

Cân 1,500 g chế phẩm chuyển vào cối, thêm 25 ml nước và 0,5 ml dung dịch phenolphthalein (TT). Vừa nghiền đều chế phẩm trong cối vừa chuẩn độ bằng dung dịch acid hydrochloric 1 N (CĐ) cho đến khi màu đỏ biến mất. Dung dịch sau khi định lượng được dùng để thử carbonat.

1 ml dung dịch acid hydrochloric 1 N (CĐ) tương đương với 37,05 mg Ca(OH)₂.

Bảo quản

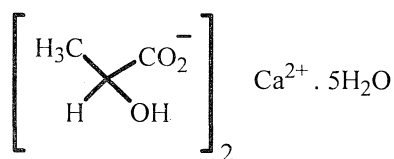
Trong lọ kín.

Chế phẩm

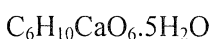
Dung dịch calci hydroxyd.

CALCI LACTAT PENTAHYDRAT

Calcii lactas pentahydricus



và đồng phân đối quang



P.t.l (dạng khan): 218,2

Calci lactat pentahydrat là calci bis-2-hydroxy-propanoat hoặc hỗn hợp của calci (2R)-, (2S)- và (2RS)-2-hydroxypropanoat pentahydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % C₆H₁₀CaO₆, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột dạng hạt hoặc tinh thể trắng hoặc gần như trắng, lên hoa nhẹ. Tan trong nước, dễ tan trong nước sôi, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử mất khối lượng do làm khô.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của ion lactat và phản ứng B của ion calci (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 7,1 g chế phẩm (tương đương với 5,0 g chế phẩm đã làm khô) trong nước không có carbon dioxyl (TT) bằng cách đun nóng, để nguội và pha loãng đến 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,1 ml dung dịch phenolphthalein (TT) và 0,5 ml dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT) vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch thu được phải không màu. Không được dùng quá 2,0 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ) để làm chuyển màu của chỉ thị sang hồng.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 0,75 g calci phosphat monohydrat (TT) trong 20 ml nước. Thêm 1,0 ml acid phosphoric (TT) và pha loãng thành 1000 ml bằng nước. pH của dung dịch là 2,2. Điều chỉnh pH, nếu cần, bằng acid phosphoric (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng nước.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg calci lactat (TT) và 25 mg 2-hydroxybutyrat natri (TT) trong nước và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (30 cm × 7,8 mm) được nhồi nhựa trao đổi cation mạnh dùng cho sắc ký (dạng calci) (8 μm), nhiệt độ cột là 85 °C.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 0,4 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải. Ghi sắc đồ trong khoảng thời gian bằng hai lần thời gian lưu của acid lactic. Độ phân giải giữa pic của acid lactic (thời gian lưu khoảng 24,3 phút) và pic của tạp acid (2RS)-2-hydroxybutanoic (thời gian lưu tương đối so với pic

của acid lactic là 1,16) không được nhỏ hơn 4. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Diện tích của pic tương ứng với tạp acid (2RS)-2-hydroxybutanoic trên sắc đồ của dung dịch thử sau khi nhân với hệ số hiệu chỉnh là 0,6 không được quá 0,4 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Diện tích của bất cứ pic phụ nào khác trên sắc đồ của dung dịch thử đều không được quá 0,2 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %). Tổng diện tích của các pic phụ ngoài pic của acid lactic không được vượt quá diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %) và các pic có thời gian lưu nhỏ hơn 14 phút.

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 5 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,04 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 7,5 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Bari

Thêm 1 ml dung dịch calci sulfat (TT) vào 10 ml dung dịch S. Để yên 15 phút. Dung dịch trên không được đục hơn dung dịch chứa 1 ml nước và 10 ml dung dịch S.

Kim loại nặng

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

Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với 2,0 g chế phẩm đã làm khô trong nước và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 4,0 ml dung dịch S pha loãng thành 10 ml bằng nước và tiến hành thử.

Muối magnesi và các kim loại kiềm

Không được quá 1 %.

Thêm 20 ml nước, 2 g amoni clorid (TT) và 2 ml dung dịch amoniac loãng (TT) vào 20 ml dung dịch S. Đun đến sôi và thêm nhanh 40 ml dung dịch amoni oxalat 4 % (TT) đang nóng. Để yên trong 4 giờ, pha loãng đến 100 ml bằng nước và lọc. Thêm 0,5 ml acid sulfuric (TT) vào 50,0 ml dịch lọc, bốc hơi đến khô và nung cần đến khối lượng không đổi ở 600 °C. Cẩn thu được không quá 5 mg.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 22,0 % đến 27,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 125 °C).

Định lượng

Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với 0,200 g chế phẩm đã làm khô trong nước và pha loãng với nước thành 300 ml. Tiến hành định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

1 ml dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ) tương đương với 21,82 mg C₆H₁₀CaO₆.

Bảo quản

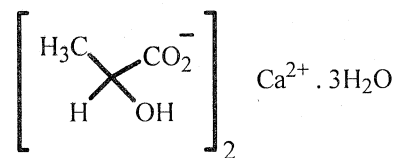
Trong lọ kín.

Loại thuốc

Điều trị thiếu calci.

CALCI LACTAT TRIHYDRAT

Calcii lactas trihydricus



và đồng phân đối quang

C₆H₁₀CaO₆·3H₂O

P.t.l (dạng khan): 218,2

Calci lactat trihydrat là calci bis-2-hydroxypropanoat hoặc hỗn hợp của calci (2R)-, (2S)- và (2RS)-2-hydroxypropanoat trihydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % C₆H₁₀CaO₆, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột dạng hạt hoặc tinh thể trắng hoặc gần như trắng. Tan trong nước, dễ tan trong nước sôi, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử mất khối lượng do làm khô.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của ion lactat và phản ứng B của ion calci (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 6,2 g chế phẩm (tương đương với 5,0 g chế phẩm đã làm khô) trong nước không có carbon dioxyl (TT) bằng cách đun nóng, để nguội và pha loãng đến 100 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,1 ml dung dịch phenolphthalein (TT) và 0,5 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ) vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch thu được phải không màu. Không được dùng quá 2,0 ml dung dịch natri hydroxyl 0,01 M (CĐ) để làm chuyển màu của chỉ thị sang hồng.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 0,75 g *calci phosphat monohydrat* trong 20 ml *nước*. Thêm 1,0 ml *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*. pH của dung dịch là 2,2. Điều chỉnh pH nếu cần bằng *acid phosphoric (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg *calci lactat (TT)* và 25 mg natri 2-hydroxybutyrat (TT) trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (30 cm × 7,8 mm) được nhồi nhựa trao đổi cation mạnh dùng cho sắc ký (dạng calci) (8 µm), nhiệt độ cột 85 °C.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 0,4 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải. Ghi sắc đồ trong khoảng thời gian bằng hai lần thời gian lưu của acid lactic. Độ phân giải giữa pic của acid lactic (thời gian lưu khoảng 24,3 phút) và pic của tạp acid (2RS)-2-hydroxybutanoic (thời gian lưu tương đối so với pic của acid lactic là 1,16) không được nhỏ hơn 4. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Diện tích của pic tương ứng với tạp acid (2RS)-2-hydroxybutanoic trên sắc đồ của dung dịch thử sau khi nhân với hệ số hiệu chỉnh là 0,6 không được quá 0,4 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Diện tích của bất cứ pic phụ nào khác trên sắc đồ của dung dịch thử đều không được quá 0,2 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %). Tổng diện tích của các pic phụ ngoài pic của acid lactic không được vượt quá diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %) và các pic có thời gian lưu nhỏ hơn 14 phút.

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 5 ml dung dịch S, pha loãng với *nước* thành 15 ml và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,04 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 7,5 ml dung dịch S, pha loãng với *nước* thành 15 ml và tiến hành thử.

Bari

Thêm 1 ml *dung dịch calci sulfat (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Để yên 15 phút. Dung dịch trên không được

đục hơn dung dịch chứa 1 ml *nước* và 10 ml dung dịch S.

Kim loại nặng

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

Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với 2,0 g chế phẩm đã làm khô trong vừa đủ 20 ml *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 4,0 ml dung dịch S pha loãng thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Muối của magnesi và các kim loại kiềm

Không được quá 1 %.

Thêm 20 ml *nước (TT)*, 2 g *amoni clorid (TT)* và 2 ml *dung dịch amoniac loãng (TT)* vào 20 ml dung dịch S. Đun đến sôi và thêm nhanh 40 ml *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)* đang nóng. Để yên trong 4 giờ, pha loãng thành 100 ml bằng *nước* và lọc. Thêm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)* vào 50,0 ml dịch lọc, bốc hơi đến khô và nung cân đến khối lượng không đổi ở 600 °C. Cân thu được không quá 5 mg.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 15,0 % đến 20,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 125 °C).

Định lượng

Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với 0,200 g chế phẩm đã làm khô trong *nước* và pha loãng với *nước* thành 300 ml. Tiến hành định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

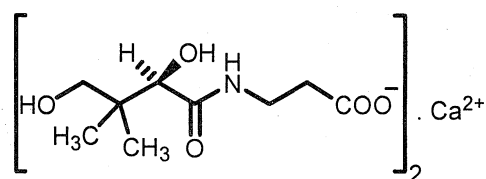
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CD)* tương đương với 21,82 mg $C_6H_{10}CaO_6$.

Bảo quản

Trong lọ kín.

Loại thuốc

Điều trị thiếu calci.

CALCI PANTOTHENAT*Calcii pantothenas*

$C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$

P.t.l: 476,5

Calci pantothenat là calci bis[(R)-3-(2,4-dihydroxy-3,3-dimethylbutyramido)propionat], phải chứa từ 98,0 %

đến 101,0 % $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng, hơi hút ẩm. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính

A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử “Góc quay cực riêng”.

B. Xác định trên sắc ký đồ ở mục thử acid 3-aminopropionic. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

C. Thêm 1 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT) và 0,1 ml dung dịch đồng sulfat 12,5 % (TT) vào 1 ml dung dịch S. Màu xanh xuất hiện.

D. Chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của ion calci (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng đến 100 ml bằng cùng dung môi.

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

pH

pH của dung dịch S phải từ 6,8 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +25,5° đến +27,5°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Xác định trên dung dịch S.

Acid 3-aminopropionic

Không được quá 0,5 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Nước - ethanol (35 : 65).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg calci pantothenat chuẩn trong nước và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg acid 3-aminopropionic (TT) trong nước và thêm nước vừa đủ 50 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên và triển khai bản mỏng tới khi dung dịch đi được 12 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí và phun dung dịch ninhydrin (TT). Sấy ở 110 °C trong 10 phút. Bất kỳ vết phụ nào tương ứng với acid 3-aminopropionic trên sắc ký đồ của dung

dịch thử (1) cũng không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 5 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Kim loại nặng

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

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

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,180 g chế phẩm trong 50 ml acid acetic khan (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 6.12).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 23,83 mg $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$.

Bảo quản

Trong lọ kín.

CALCI PHOSPHAT

Calcii phosphas

Chế phẩm là hỗn hợp các loại calci phosphat, chứa từ 35,0 % đến 40,0 % Ca.

Tính chất

Bột trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong acid hydrochloric loãng (TT) và acid nitric loãng (TT).

Định tính

A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml dung dịch acid nitric 25 % (tt/tt) (TT). Lấy 2 ml dung dịch này, thêm 2 ml dung dịch amoni molybdat (TT), sẽ xuất hiện tủa vàng.

B. Nung 0,2 g chế phẩm trong chén sứ, để nguội. Thêm 0,5 ml dung dịch bạc nitrat 4,25 % (TT), hỗn hợp sẽ có màu vàng.

C. Chế phẩm cho phản ứng A của ion calci (Phụ lục 8.1). Lọc trước khi thêm dung dịch kali ferocyanid (TT).

Clorid

Không được quá 0,15 % (Phụ lục 9.4.5).

Hòa tan 0,22 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 ml acid nitric đậm đặc (TT) và 10 ml nước, pha loãng thành 100 ml bằng nước. Lấy 15 ml dung dịch này và tiến hành thử.

Fluorid

Không được quá 75 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2) dùng điện cực chỉ thị chọn lọc fluorid và điện cực so sánh bạc - bạc clorid.

Dung dịch thử: Trong bình định mức 50 ml, hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)*, thêm 5,0 ml *dung dịch fluorid mẫu 1 phần triệu (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)*. Lấy 20,0 ml dung dịch trên, thêm 20,0 ml *đệm hiệu chỉnh lực ion toàn phần (TT)* và 3 ml *dung dịch natri acetat khan 8,2 %*. Điều chỉnh pH đến 5,2 bằng *amoniac đậm đặc (TT)* và thêm nước thành 50,0 ml.

Các dung dịch chuẩn: Lấy 5,0 ml; 2,0 ml; 1,0 ml, 0,5 ml và 0,25 ml *dung dịch fluorid mẫu 10 phần triệu (TT)*, thêm 20,0 ml *đệm hiệu chỉnh lực ion toàn phần (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng nước.

Tiến hành đo trên 20,0 ml mỗi dung dịch. Tính nồng độ fluorid bằng cách sử dụng đường cong chuẩn có tính đến lượng fluorid đã cho thêm vào dung dịch thử.

Sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.4.14).

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong 20 ml *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)*. Nếu dung dịch không trong, lọc. Thêm từng giọt *dung dịch amoniac 10 % (TT)* đến khi có tủa tạo thành. Hòa tan tủa bằng cách thêm *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)* và pha loãng bằng nước thành 50 ml.

Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 25 ml bằng nước. Lấy 15 ml dung dịch thu được tiến hành thử.

Arsen

Không được quá 4 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 5 ml dung dịch S tiến hành thử theo phương pháp A.

Kim loại nặng

Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Pha loãng 13 ml dung dịch S thành 20 ml bằng nước.

Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 1.

Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 0,04 % (Phụ lục 9.4.13).

Pha loãng 0,5 ml dung dịch S thành 10 ml bằng nước và tiến hành thử.

Chất không tan trong acid

Không được quá 0,2 %.

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *acid hydrochloric đậm đặc (TT)* và 30 ml nước. Lọc, rửa cân bằng nước và sấy cân đến khối lượng không đổi ở 100 °C đến 105 °C. Cân thu được không được quá 10 mg.

Mất khối lượng do nung

Không được quá 8,0 %.

(1,000 g; 800 °C; 30 min).

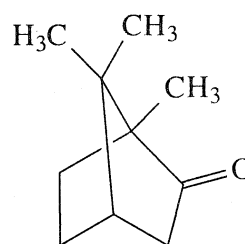
Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 ml *acid hydrochloric 25% (TT)* và 5 ml nước. Thêm 25,0 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* và pha loãng thành 200 ml bằng nước. Điều chỉnh đến pH 10,0 bằng *amoniac đậm đặc (TT)*. Thêm 10 ml *dung dịch đệm amoni clorid pH 10,0 (TT)* và vài miligam hỗn hợp *đen eriocrom T (TT)*. Chuẩn độ natri edetat thừa bằng *dung dịch kẽm sulfat 0,1 M (CĐ)* đến khi màu chuyển từ xanh lam sang tím.

1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 4,008 mg Ca.

Bảo quản

Trong lọ kín.

CAMPBOR**Camphora****Long não**

và đồng phân đối quang

$C_{10}H_{16}O$

P.t.l: 152,2

Camphor là (1R,4S)-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-on, được chiết từ tinh dầu của cây Long não *Cinnamomum camphora* (Linn.) Nees et Eberm, họ Lauraceae (camphor thiên nhiên, hữu tuyến) hoặc được điều chế bằng tổng hợp hóa học (camphor tổng hợp, racemic hoặc tả tuyến).

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc phiến, khối kết tinh không màu. Dễ nghiền mịn với một ít ethanol, cloroform hay ether. Mùi thơm mạnh, đặc trưng; vị lúc đầu nóng sau mát lạnh và dễ chịu; dễ thăng hoa ngay ở nhiệt độ thường. Đun nóng cẩn thận, chế phẩm thăng hoa hoàn toàn và không bị carbon hóa; cháy cho khói đen và ngọn lửa sáng. Khó tan trong nước, rất tan trong cloroform, ethanol 96 %, ether, ether dầu hỏa, dễ tan trong dầu béo và tinh dầu, rất ít tan trong glycerin.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: A, B, D.

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong 10 ml *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

A. Góc quay cực riêng. Xác định trên dung dịch S (Phụ lục 6.4).

Camphor thiên nhiên (loại hữu tuyến): Từ +39° đến +44°.

Camphor tổng hợp (loại racemic): Từ -1,5° đến +1,5°; (loại tả tuyến): Từ -39° đến -44°.

B. Điểm chảy: Camphor thiên nhiên chảy ở 174 °C đến 181 °C; Camphor tổng hợp chảy ở 172° đến 180 °C (Phụ lục 6.7).

C. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của camphor hoặc phổ hồng ngoại của camphor chuẩn. Tiến hành thử chế phẩm dưới dạng bột nhão với *parafin lỏng* (TT).

D. Pha loãng 0,5 ml dung dịch S với *ethanol* 96 % (TT) thành 20 ml. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng bước sóng từ 230 đến 350 nm. Dung dịch có một cực đại hấp thụ ở 289 nm và độ hấp thụ ở 289 nm là khoảng 0,53.

Khi tiến hành các phép thử cần cân chế phẩm cẩn thận và hòa tan nhanh.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT) vào 10 ml dung dịch S, dung dịch phải không màu. Màu phải chuyển sang hồng, khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CĐ).

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2)

Dung dịch thử: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *heptan* (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với *heptan* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml với *heptan* (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 0,50 g *borneol* (TT) trong *heptan* (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch trên thành 50,0 ml với *heptan* (TT).

Dung dịch phân giải: Hòa tan 50 mg *linalol* (TT) và 50 mg *bornyl acetat* (TT) trong *heptan* (TT) và pha loãng tới 100 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột: (30 m × 0,25 mm) được nhồi *macrogol* 20 000 (0,25 μm).

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 70.

Tốc độ dòng: 45 cm/s.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 10	50
	10 - 35	50 → 100
	35 - 45	100 → 200
	45 - 55	200
Buồng tiêm		220
Detector		250

Detector: Ion hóa ngọn lửa

Thể tích tiêm : 1 μl

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải: Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic bornyl acetat và linalol ít nhất là 3,0.

Tiêm các dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Diện tích pic tương ứng với borneol không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu 3 (2,0 %). Diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác ngoài pic tương ứng với borneol và pic chính, không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Tổng diện tích của các pic phụ khác không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (4,0 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Halogen

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *2-propanol* (TT) trong bình chưng cất. Thêm 1,5 ml *dung dịch natri hydroxyd* 2 M (TT), 50 mg *hợp kim nhôm - nickel* (TT). Đun cách thủy đến khi 2-propanol bay hơi hoàn toàn. Để nguội và thêm 5 ml *nước*. Khuấy đều và lọc qua giấy lọc ướt đã được rửa bằng *nước* đến khi hết clorid. Pha loãng dịch lọc thành 10,0 ml với *nước*. Thêm vào 5,0 ml dung dịch trên từng giọt *acid nitric* (TT) đến khi tua tạo thành tan trở lại và pha loãng thành 15 ml với *nước*. Dung dịch thu được đáp ứng phép thử giới hạn clorid.

Nước

Hòa tan 1 g chế phẩm trong 10 ml *ether dầu hòa* (TT).

Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2).

Cẩn sau khi bốc hơi

Không được quá 0,05 %.

Bốc hơi 2,0 g chế phẩm trên cách thủy và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 1 giờ. Cẩn còn lại không được quá 1 mg.

Bảo quản

Trong chai lọ nút kín, để nơi khô mát.

Ghi chú

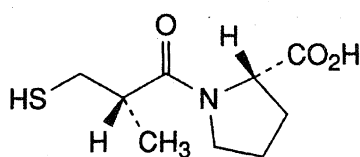
Tương kỵ: Tạo hỗn hợp chảy lỏng (hỗn hợp lỏng, đặc sệt, trong suốt) với phenol, menthol, thymol, salol, naphthol, resorcin, pyrocatechol, pyrogallol, acid salicylic, phenylsalicylat, cloral hydrat, antipirin ...

Loại thuốc

Thuốc kích thích da, giảm đau, chống ngứa.

Chế phẩm

Cồn long não, cồn long não - opi, nước long não đậm đặc, dầu xoa long não.

CAPTOPRIL**Captoprilum**

$C_9H_{15}NO_3S$

P.t.l: 217,3

Captopril là acid (2S)-1-[(2S)-2-methyl-3-sulphanylpropanoyl]pyrrolidin-2-carboxylic, phải chứa từ 98,0 % đến 101,5 % $C_9H_{15}NO_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, dễ tan trong nước, trong dicloromethan và methanol, tan trong các dung dịch loãng của hydroxyd kim loại kiềm.

Định tính

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

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

pH

Từ 2,0 đến 2,6 (Phụ lục 6.2)

Dùng dung dịch S để xác định.

Góc quay cực riêng

Từ -127° đến -132° , tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4)

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong ethanol (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acid phosphoric - methanol - nước (0,05 : 50 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng bằng pha động thành 100,0 ml.

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

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg chế phẩm trong pha động, thêm 0,25 ml dung dịch iod 0,05 M rồi pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Lấy 10,0 ml dung dịch này cho vào bình định mức 100,0 ml, thêm pha động đến vạch.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (12,5 cm × 4 mm), được nhồi octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (TT) (5 μm).

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

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

Thể tích tiêm: 20 μl.

Thời gian chạy sắc ký: Gấp 3 lần thời gian lưu của captopril.

Cách tiến hành:

Xác định tính thích hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 3 pic. Độ phân giải giữa hai pic cuối ít nhất là 2,0.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1): Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %). Tổng diện tích của tất cả các pic phụ trừ các pic có diện tích bằng hoặc nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %) và diện tích các pic có thời gian lưu nhỏ hơn 1,4 phút không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (2,0 %).

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6, phương pháp 2). (1,000 g; áp suất rất thấp; 60 °C; 3 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9).

Lấy 1,0 g chế phẩm để thử.

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 30 ml nước. Chuẩn độ bằng dung dịch iod 0,05 M (CĐ), xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Dùng điện cực kết hợp platin.

1 ml dung dịch iod 0,05 M (CĐ) tương đương với 21,73 mg $C_9H_{15}NO_3S$.

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín.

Loại thuốc

Chất ức chế men chuyển angiotensin.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN CAPTOPRIL

Tabellae Captoprili

Là viên nén hay viên bao chứa captopril.

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

Hàm lượng captopril, $C_9H_{15}NO_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng hoặc viên bao màu đồng nhất.

Định tính

A. Cân một lượng bột viên tương ứng với 50 mg captopril, thêm 5 ml *ethanol* 96 % (TT), lắc kỹ 5 phút, lọc. Lấy 2 ml dịch lọc, thêm một vài tinh thể *natri nitrat* (TT) và 10 ml *dung dịch acid sulfuric* 10 % (TT), lắc mạnh, xuất hiện màu đỏ.

B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic captopril trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

Captopril disulfid

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động và điều kiện sắc ký được thực hiện như mô tả trong mục Định lượng.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 25 mg captopril vào ống ly tâm, thêm 25,0 ml *methanol* (TT) và ly tâm 15 phút. Sử dụng dịch trong ở trên.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch captopril disulfid chuẩn 0,0020 % trong *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 100 thể tích với dung dịch đối chiếu (1).

Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic captopril và pic captopril disulfid trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) ít nhất là 2,0.

Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với captopril disulfid không được lớn hơn diện tích của pic trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (2 %).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp *methanol* - nước - acid phosphoric (550 : 450 : 0,5).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch có nồng độ captopril chuẩn 0,01 % và captopril disulfid chuẩn 0,0005 % trong pha động.

Dung dịch thử: Cân 20 viên (đã loại bỏ lớp vỏ bao, nếu là viên bao), xác định khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 25 mg captopril vào ống ly tâm, thêm 25,0 ml pha động, để siêu âm 15 phút và ly tâm. Pha loãng 1 ml dịch trong ở trên thành 10,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 μm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic captopril và pic captopril disulfid trong sắc ký đồ thu được ít nhất là 2,0.

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

Tính hàm lượng captopril, $C_9H_{15}NO_3S$, trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) của pic captopril trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_9H_{15}NO_3S$ của captopril chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

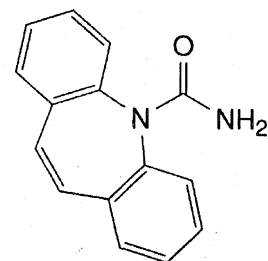
Chống tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng

12,5 mg; 25 mg.

CARBAMAZEPIN

Carbamazepinum



$C_{15}H_{12}N_2O$

P.t.l: 236,3

Carbamazepin là 5H-dibenzo[b,f]azepin-5-carboxamid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{15}H_{12}N_2O$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình, rất khó tan trong nước, dễ tan trong dicloromethan, hơi tan trong aceton và ethanol 96 %.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của carbamazepin chuẩn. Đo dưới dạng đĩa, không phải xử lý mẫu trước khi đo.
B. Điểm chảy: Từ 189 °C đến 193 °C (Phụ lục 6.7).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 1,0 g chế phẩm, thêm 20 ml nước không có carbon dioxyd (TT), lắc trong 15 phút rồi lọc. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 0,05 ml dung dịch phenolphthalein (TT) và 0,5 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ). Dung dịch có màu đỏ. Thêm 1,0 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ), dung dịch mất màu. Thêm 0,15 ml dung dịch đỏ methyl (TT), dung dịch có màu đỏ.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Tetrahydrofuran - methanol - nước (3 : 12 : 85). Lấy 1000 ml dung dịch này, thêm 0,2 ml acid formic khan (TT) và 0,5 ml triethylamin (TT).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng bằng methanol (TT) thành 50,0 ml. Siêu âm. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml bằng nước.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng một hỗn hợp đồng thể tích methanol (TT) và nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 7,5 mg carbamazepin chuẩn; 7,5 mg tạp chất chuẩn A của carbamazepin và 7,5 mg tạp chất chuẩn E của carbamazepin trong methanol (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch này, pha loãng thành 50,0 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích methanol (TT) và nước.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 0,150 mg carbamazepin chuẩn trong methanol (TT) rồi pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Lấy 5,0 ml dung dịch này pha loãng bằng hỗn hợp đồng thể tích methanol (TT) và nước thành 50,0 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm), chất nhồi nitril silica gel dùng cho sắc ký (10 µm).

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Detector: Quang phổ tử ngoại, đặt ở bước sóng 230 nm.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Thời gian chạy sắc ký: Gấp 6 lần thời gian lưu của carbamazepin (thời gian lưu của carbamazepin khoảng 10 phút).

Cách tiến hành:

Tiêm riêng biệt dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

Thời gian lưu tương đối: Tính theo carbamazepin, tạp chất B khoảng 0,7; tạp chất A khoảng 0,9; tạp chất C khoảng 1,6; tạp chất D khoảng 3,5 và tạp chất E khoảng 5,1.

Tính thích hợp của hệ thống: Độ phân giải giữa pic carbamazepin và pic của tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) tối thiểu là 1,7.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: Diện tích của pic tạp chất A; diện tích của pic tạp chất E không được lớn hơn diện tích của các pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %); diện tích của bất kỳ pic nào khác không được lớn hơn diện tích của pic carbamazepin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %). Tổng diện tích tất cả các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic carbamazepin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %); không tính các pic có diện tích bằng hoặc nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic carbamazepin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 10,11-dihydro-5H-dibenzo[b,f]azepin-5-carboxamid (10,11-dihydrocarbamazepin)

Tạp chất B: 9-methylacridin

Tạp chất E: 10,11-dihydro-5H-dibenzo[b,f]azepine (iminodibenzyl)

Tạp chất C: (5H-dibenzo[b,f]azepin-5-ylcarbonyl)ure (N-carbamoylcarbamazepin)

Tạp chất D: 5H-dibenzo[b,f]azepin (iminostilben)

Clorid

Không được quá 140 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Lắc kỹ 0,715 g chế phẩm với 20 ml nước, đun sôi 10 phút. Để nguội và pha loãng với nước thành 20 ml. Lọc qua màng (cỡ lỗ lọc 0,8 µm). Pha loãng 10 ml dịch lọc này bằng nước thành 15 ml. Dùng dung dịch này làm dung dịch thử.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Lấy 2 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị ống mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 2 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm để thử.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành như phần thử "Tạp chất liên quan".

Tiêm dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2).

Tính thích hợp của hệ thống: Tính độ lệch chuẩn tương đối theo dung dịch đối chiếu (2).

Tính hàm lượng (%) theo chế phẩm khan.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Chống động kinh.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN CARBAMAZEPIN**Tabellae Carbamazepini**

Là viên nén chứa carbamazepin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng carbamazepin, $C_{15}H_{12}N_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng 220 đến 350 nm có các hấp thụ cực đại ở khoảng 238 nm và 285 nm.

B. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) về vị trí, màu sắc và kích thước.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluene - methanol (95 : 5).

Dung dịch thử (1): Cân một lượng bột viên tương ứng với 0,2 g carbamazepin, chiết ba lần, mỗi lần với 10 ml *cloroform* (TT). Tập trung các dịch chiết *cloroform* và lọc. Cho dịch lọc bay hơi đến khô, hòa cần thu được trong 10,0 ml *cloroform* (TT).

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử (1) thành 10 thể tích với *cloroform* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch iminodibenzyl chuẩn 0,006 % trong *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch carbamazepin chuẩn 0,2 % trong *cloroform* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí trong 15 phút, phun *dung dịch kali dicromat* 0,5 % trong *dung dịch acid sulfuric* 20 % (tt/tt). Để khô ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng ban ngày, hoặc dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 24 ml *dung dịch acid hydrochloric* 10 % (TT) pha loãng thành 1000 ml với *nước*.

Tốc độ quay: 150 r/min.

Thời gian: 60 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 6 - 15 µg carbamazepin/ml. Đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 285 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính hàm lượng carbamazepin, $C_{15}H_{12}N_2O$, đã hòa tan trong mỗi viên theo A (1 %, 1 cm), lấy 518 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 285 nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 65 % lượng carbamazepin, $C_{15}H_{12}N_2O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 phút.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg carbamazepin vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml *ethanol* 96 % (TT), làm nóng trên cách thủy 15 phút, lắc liên tục, để nguội, pha loãng đến định mức với *ethanol* 96 % (TT), lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 250,0 ml với *ethanol* 96 % (TT), lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng khoảng 285 nm trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là *ethanol* 96 % (TT). Tính hàm lượng carbamazepin, $C_{15}H_{12}N_2O$, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 490 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 285 nm.

Bảo quản

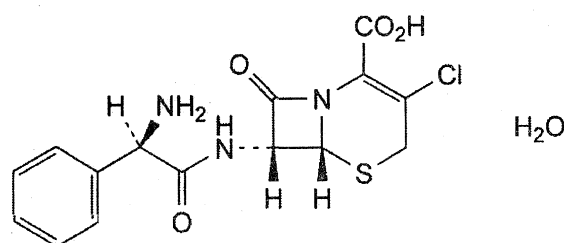
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống động kinh.

Hàm lượng thường dùng

200 mg.

CEFACLOR**Cefaclorum**

$C_{15}H_{14}ClN_3O_4S \cdot H_2O$

P.t.l: 385,8

Cefaclor là acid (6R,7R)-7-[[[(2R)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3-cloro-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic monohydrat, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc hơi vàng. Khó tan trong nước, thực tế không tan trong methanol và trong dicloromethan.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cefaclor chuẩn.

B. Thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ ở phần định lượng của dung dịch thử phải tương đương với thời gian lưu của pic chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

C. Lấy khoảng 2 mg chế phẩm cho vào một ống nghiệm có chiều dài 15 cm và đường kính 1,5 cm. Làm ẩm bằng một giọt nước, thêm 2 ml dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT). Quay tròn ống nghiệm để trộn đều, dung dịch phải không màu. Đặt ống nghiệm vào trong cách thủy, sôi 1 phút, dung dịch chuyển thành màu nâu vàng.

pH

Lắc 0,250 g chế phẩm với 10 ml nước không có carbon dioxyd (TT), pH của hỗn dịch phải từ 3,0 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ $+101^\circ$ đến $+111^\circ$, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT), và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Hòa tan 7,8 g natri dihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước, điều chỉnh tới pH 4,0 bằng acid phosphoric (TT).

Pha động B: Trộn 450 ml acetonitril (TT) với 550 ml pha động A.

Dung môi pha mẫu: Hòa tan 2,7 g natri dihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước sau đó điều chỉnh tới pH 2,5 bằng acid phosphoric (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 10,0 ml dung môi pha mẫu.

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

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2,5 mg cefaclor chuẩn và 5,0 mg delta-3-cefaclor chuẩn trong dung môi pha mẫu, pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel* dùng cho sắc ký (5 μ m). Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột với một hỗn hợp pha động B - pha động A (5 : 95) ít nhất 15 phút giữa mỗi lần phân tích. Tiêm các dung dịch sắc ký. Tiến hành rửa giải bằng cách tăng dần đều nồng độ pha động B trong 30 phút ở tỷ lệ 0,67 % tt/tt trong 1 phút (Pha động B đạt tỷ lệ 25 % tt/tt). Sau đó tăng dần đều pha động B trong 15 phút ở tỷ lệ 5 % tt/tt trong 1 phút (Pha động B đạt tỷ lệ 100 % tt/tt). Cuối cùng rửa giải bằng pha động B trong khoảng 10 phút. Cân bằng lại cột với hỗn hợp pha động B - pha động A (5 : 95).

Tiêm dung dịch phân giải: Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic chính cefaclor và delta-3-cefaclor ít nhất là 2 và hệ số đối xứng của pic cefaclor lớn nhất là 1,2. Nếu cần thiết điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào trừ pic chính và các pic của dung môi pha mẫu đều không được lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu (0,5 %) và tổng diện tích của tất cả các pic như vậy không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2 %). Loại bỏ tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 3 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

3,0 % đến 6,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,200 g chế phẩm.

Định lượng

Bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 1 g natri pentansulfonat trong hỗn hợp 780 ml nước và 10 ml triethylamin (TT), điều chỉnh hỗn hợp tới pH 2,5 bằng acid phosphoric (TT). Thêm 220 ml methanol (TT) vào hỗn hợp trên.

Dung dịch thử: Hòa tan 15,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 15,0 mg cefaclor chuẩn và 15,0 mg delta-3-cefaclor chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 15,0 mg cefaclor chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ: (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

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

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải: Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic chính cefaclor và delta-3-cefaclor ít nhất là 2,5 và hệ số đối xứng của pic cefaclor lớn nhất là 1,5. Nếu cần thiết, điều chỉnh tỷ lệ methanol trong pha động. Tiêm dung dịch chuẩn sáu lần. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic giữa sáu lần tiêm của dung dịch chuẩn không quá 1,0 %. Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng của cefaclor từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng của cefaclor chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nén, viên nang, hỗn dịch.

NANG CEFACLOR

Capsulae Cefaclori

Là nang cứng chứa cefaclor.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cefaclor khan, $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng nhãn bóng, không méo mó, bột thuốc bên trong đồng nhất.

Định tính

A. Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 0,3 g cefaclor khan với 100 ml nước, lọc và pha loãng 1 ml dịch lọc thành 100 ml với nước. Phổ hấp thụ của dung dịch thu được ở dải sóng 190 nm đến 310 nm chỉ có một cực đại hấp thụ ở 264 nm (Phụ lục 4.1).

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

Nước

Không được quá 8,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,5 g bột thuốc trong nang.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cách khuấy.

Môi trường: 900ml nước.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc với nước (nếu cần) để thu được dung dịch có nồng độ cefaclor khan 0,025 %. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng có hấp thụ cực đại khoảng 264 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là nước. Tính toán hàm lượng cefaclor, $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$, hòa tan trong mỗi nang dựa vào độ hấp thụ của dung dịch cefaclor chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng dung môi.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % lượng cefaclor khan, $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 1,0 g natri pentansulfonat (TT) trong hỗn hợp gồm 780 ml nước và 10 ml triethylamin (TT), điều chỉnh pH về $2,5 \pm 0,1$ bằng acid phosphoric (TT), thêm 220 ml methanol (TT) và trộn đều.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefaclor chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,3 mg trong 1 ml. Siêu âm để hòa tan, nếu cần, tránh không làm nóng dung dịch.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 15 mg cefaclor khan vào bình định mức 50 ml, thêm 35 ml pha động và lắc siêu âm 15 phút, tránh không làm nóng dung dịch. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch và lắc đều, lọc.

Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng cefaclor chuẩn và delta-3-cefaclor chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ 0,3 mg/ml mỗi chất.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

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

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của cefaclor và delta-3-cefaclor lần lượt là 0,8 và 1,0; độ phân giải giữa hai pic cefaclor và delta-3-cefaclor không nhỏ hơn 2,5; hệ số đối xứng của pic cefaclor không lớn hơn 1,5.

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefaclor trong 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %. Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng cefaclor, $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic của cefaclor thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$ trong cefaclor chuẩn.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

Đề nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

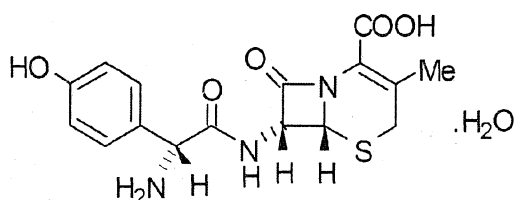
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg; 500 mg.

CEFADROXIL MONOHYDRAT

Cefadroxilum monohydricum



$C_{16}H_{17}N_3O_5S \cdot H_2O$

P.t.l: 381,4

Cefadroxil là acid (6*R*,7*R*)-7-[[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic monohydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng.

Khó tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cefadroxil chuẩn.

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel F_{254} đã được silan hóa.

Dung môi khai triển: Hỗn hợp tetrahydrofuran - dung dịch amoni acetat 15,4 % đã được điều chỉnh pH đến 6,2 bằng acid acetic (10 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 5 ml hỗn hợp đồng thể tích của methanol (TT) và dung dịch đệm phosphat 0,067 M pH 7,0.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg cefadroxil chuẩn trong 5 ml hỗn hợp đồng thể tích của methanol (TT) và dung dịch đệm phosphat 0,067 M pH 7,0.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg cefadroxil chuẩn và 20 mg cephalixin chuẩn trong 5 ml hỗn hợp đồng thể tích của methanol (TT) và dung dịch đệm phosphat 0,067 M pH 7,0.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 μ l các dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách rõ ràng.

C. Cho khoảng 2 mg chế phẩm vào một ống nghiệm có chiều dài 150 mm và đường kính 15 mm. Làm ẩm bằng 0,05 ml nước và thêm 2 ml dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT). Lắc đều, dung dịch có màu vàng. Đặt ống nghiệm vào trong cách thủy trong 1 phút, màu da cam xuất hiện.

pH

Từ 4,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Lắc 1,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng đến 20 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng

Từ +165° đến +178°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong vừa đủ 50,0 ml nước.

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong dung dịch đệm phosphat pH 6,0 (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng 330 nm không được lớn hơn 0,05 (Phụ lục 4.1). Hút 10,0 ml dung dịch này pha loãng thành 100,0 ml với dung dịch đệm phosphat pH 6,0 (TT). Phổ hấp thụ ánh sáng của dung dịch pha loãng này trong khoảng bước sóng từ 235 nm đến 340 nm cho một cực đại hấp thụ tại 264 nm. Độ hấp thụ riêng tại bước sóng cực đại phải từ 225 đến 250, tính theo chế phẩm khan.

Tạp chất liên quan

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch đệm phosphat pH 5,0.

Pha động B: Methanol (TT).

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

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg D- α -(4-hydroxyphenyl)glycin chuẩn (tạp chất A) trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg acid 7-amino-desacetoxycephalosporanic chuẩn (tạp chất B) trong

dung dịch đệm phosphat pH 7,0 và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 100,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10 mg *dimethylformamid* (TT) và 10 mg *dimethylacetamid* (TT) trong vừa đủ 10,0 ml pha động A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với pha động A.

Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 25,0 ml với pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là octadecylsilyl silica gel (5 μm).

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

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min với chương trình dung môi:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 1	98	2
1 - 20	98 → 70	2 → 30
20 - 23	70 → 98	30 → 2
23 - 30	98	2

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3), (4) và (5), ghi lại sắc ký đồ.

Thời gian lưu của cefadroxil khoảng 6 phút, thời gian lưu tương đối so với cefadroxil của dimethylformamid khoảng 0,4 và của dimethylacetamid khoảng 0,75.

Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic của tạp chất A và tạp chất B trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) ít nhất phải bằng 5,0. Tỷ số tín hiệu và độ nhiễu ít nhất phải bằng 10 đối với pic thứ hai trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (5).

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic thứ nhất trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %). Bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn diện tích pic thứ hai của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %). Tổng diện tích của các pic tạp chất không được lớn hơn ba lần diện tích pic thứ hai của dung dịch đối chiếu (3) (3,0 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic thứ hai của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %). Loại bỏ các pic tương ứng với pic của dimethylformamid và dimethylacetamid.

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Nước

Từ 4,0 % đến 6,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 0,272 % (4 : 96).

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

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 50,0 mg cefadroxil chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg cefadroxil chuẩn và 50 mg amoxicilin trihydrat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là octadecylsilyl silica gel (5 μm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải vào cột sắc ký, ghi lại sắc ký đồ. Độ phân giải giữa pic của cefadroxil và amoxicilin ít nhất phải bằng 5,0. Điều chỉnh pha động nếu cần thiết.

Tiêm dung dịch thử, dung dịch chuẩn.

Tính toán hàm lượng $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ dựa vào diện tích của pic cefadroxil trong dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

Chế phẩm

Nang, hỗn dịch uống.

NANG CEFADROXIL

Capsulae Cefadroxili

Là nang cứng chứa cefadroxil monohydrat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cefadroxil khan, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng nhẵn bóng, không méo mó, bột thuốc bên trong đồng nhất.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel dày 0,25 mm, không có chất kết dính, được chuẩn bị như sau: Đặt bản mỏng trong bình sắc ký có chứa hỗn hợp dung môi *n*-hexan và tetradecan (95 : 5) ngập khoảng 1 cm, để dung môi di chuyển theo chiều dài của bản mỏng, sau đó lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký và để dung môi bay hơi.

Dung môi khai triển: Dung dịch acid citric 0,1 M - dung dịch dinatri hydrophosphat 0,1 M - dung dịch ninhydrin trong aceton có nồng độ 1 g trong 15 ml (60 : 40 : 1,5).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 20 mg cefadroxil, hòa tan trong 10 ml nước, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cefadroxil chuẩn 0,2 % trong nước.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, đánh dấu mức dung môi và để bản mỏng khô ngoài không khí. Phun lên bản mỏng dung dịch ninhydrin 0,2 % trong ethanol (TT) (dung dịch này được bảo quản tránh ánh sáng), sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 phút và quan sát dưới ánh sáng thường.

Trên sắc ký đồ thu được: Vết chính của dung dịch thử và của dung dịch đối chiếu phải giống nhau về vị trí, màu sắc và kích thước.

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

Nước

Không được quá 7,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,5 g bột thuốc trong nang.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 30 min.

Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với nước (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng có hấp thụ cực đại khoảng 263 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là nước. Tính hàm lượng cefadroxil, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, so sánh với dung dịch cefadroxil chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng dung môi.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % lượng cefadroxil, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Đệm phosphat pH 5,0: Hòa tan 13,6 g kali dihydrophosphat (TT) trong nước vừa đủ 2000 ml và điều chỉnh tới pH 5,0 bằng dung dịch kali hydroxyd 10 M (TT).

Pha động: Acetonitril - đệm phosphat pH 5,0 (4 : 96).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefadroxil chuẩn trong đệm phosphat pH 5,0 để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 1,0 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân thuốc trong từng nang của 20 nang, tính khối lượng trung bình, trộn đều, rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg cefadroxil vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml đệm phosphat pH 5,0 và lắc siêu âm 5 phút. Pha loãng bằng đệm phosphat pH 5,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.

Lưu ý: Các dung dịch chuẩn và thử được sử dụng trong ngày.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm hoặc 10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn: Hệ số dung lượng k' từ 2,0 đến 3,5; số đĩa lý thuyết của cột không nhỏ hơn 1800, hệ số đối xứng không quá 2,2; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefadroxil trong 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn không được lớn hơn 2,0 %. Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng cefadroxil, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của cefadroxil chuẩn.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

Đề nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

500 mg.

THUỐC BỘT CEFADROXIL

Pulveres Cefadroxili

Là thuốc bột chứa cefadroxil.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc bột” (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cefadroxil khan, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột khô toi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu và các phép thử như mô tả ở mục Định tính trong chuyên luận “Nang cefadroxil”.

Độ mịn

Thuốc bột phải đạt độ mịn của Bột mịn (Phụ lục 3.5).

Nước

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,0 g bột thuốc.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn, dung dịch thử, điều kiện sắc ký, cách tiến hành thực hiện như mô tả ở mục Định lượng trong chuyên luận “Nang cefadroxil”, thay bột thuốc trong nang bằng bột thuốc thu được từ phép thử Độ đồng đều khối lượng.

Bảo quản

Trong gói giấy nhôm hoặc polyethylen kín.

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

VIÊN NÉN CEFADROXIL

Tabellae Cefadroxili

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa cefadroxil. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cefadroxil khan, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu và các phép thử như mô tả ở mục Định tính trong chuyên luận “Nang cefadroxil”. Dùng bột viên thay cho bột thuốc trong nang.

Nước

Không được quá 8,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,5 g bột viên.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với nước (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung

dịch thu được ở bước sóng có hấp thụ cực đại khoảng 263 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là nước. Tính hàm lượng cefadroxil, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, so sánh với dung dịch cefadroxil chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng dung môi.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % lượng cefadroxil, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký, cách tiến hành thực hiện như mô tả ở mục Định lượng trong chuyên luận “Nang cefadroxil”.

Dung dịch thử: Cân 20 viên (loại bỏ vỏ bao, nếu có), tính khối lượng trung bình của một viên và nghiền thành bột mịn. Tiếp tục tiến hành như đã mô tả trong chuyên luận “Nang cefadroxil”.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

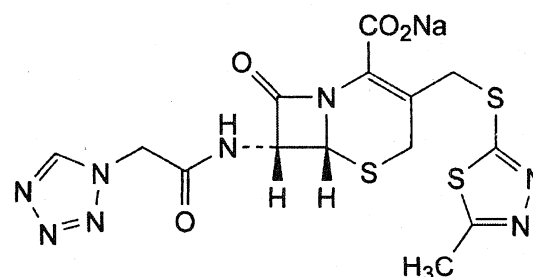
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

500 mg, 1 g.

CEFAZOLIN NATRI

Cefazolinum natrium



$C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$

P.t.l: 476,5

Cefazolin natri là muối natri của acid (6R,7R)-3-[[5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl]sulphonyl]-methyl]-8-oxo-7-[(1H-tetrazol-1-ylacetyl)amino]-5-thia-1-azabicyclo-[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột trắng hoặc trắng ngà, rất dễ hút ẩm, rất dễ tan trong nước, rất ít tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cefazolin natri chuẩn (Phụ lục 4.2).

Chuẩn bị mẫu thử: Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 5 ml nước, thêm 0,5 ml acid acetic loãng (TT), lắc và để yên trong nước đá 10 phút. Lọc lấy tủa và rửa tủa với 1 - 2 ml nước. Hòa tan tủa trong hỗn hợp nước - acetone (1 : 9). Bay hơi dung dịch đến khô, sau đó sấy ở 60 °C trong 30 phút.

Chuẩn bị mẫu đối chiếu: Lặp lại quá trình trên, thay 0,150 g chế phẩm bằng 0,150 g cefazolin natri chuẩn.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch đo ở bước sóng 430 nm khoảng 0,15.

pH

pH của dung dịch S từ 4,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ -15° đến -24°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi để đo.

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml

dung dịch này với dung dịch natri hydrocarbonat (TT) thành 100,0 ml. Đo độ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 350 nm. Dung dịch có cực đại hấp thụ ở bước sóng 272 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại 272 nm từ 260 đến 300, tính theo chế phẩm khan.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử với pha động A thành 100,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 10 ml dung dịch natri hydroxyd 0,2 %. Để 15 - 30 phút. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này với pha động A thành 20,0 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột: Thép không gỉ (12,5 cm × 4 mm) có chứa pha tĩnh C (octadecylsilyl silica gel, 3 µm).

Nhiệt độ cột: 45 °C.

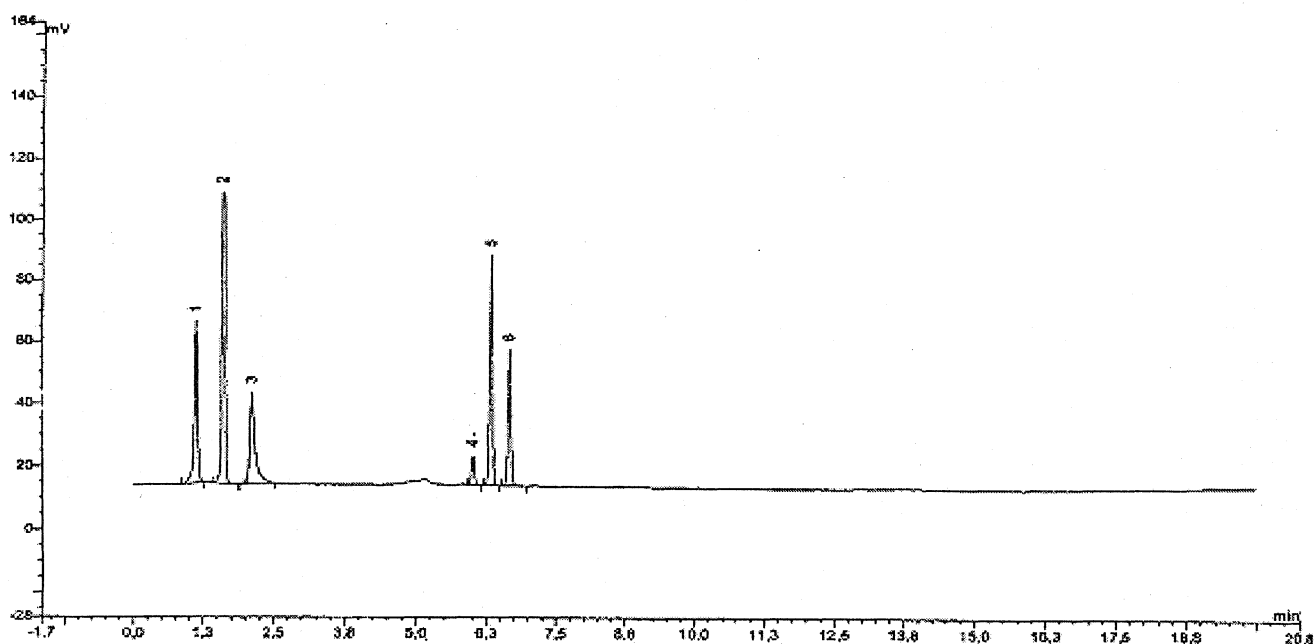
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 210 nm và 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 5 µl

Pha động A: Dung dịch dinatri hydrophosphat 1,454 % và kali dihydrophosphat 0,353 %.

Pha động B: Acetonitril dùng cho sắc ký (TT).



- | | |
|---------------|------------------|
| 1. Tạp chất F | 4. Tạp chưa biết |
| 2. Tạp chất J | 5. Cefazolin |
| 3. Tạp chất E | 6. Tạp chất I |

Hình 1 - Sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Bước sóng (nm)
0 – 1	98	2	210
1 – 2	98	2	254
2 – 4	98 → 85	2 → 15	254
4 – 10	85 → 60	15 → 40	254
10 – 11,5	60 → 35	40 → 65	254
11,5 – 12	35	65	254
12 – 15	35 → 98	65 → 2	254
15 – 16	98	2	254
16 – 21	98	2	210

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Độ phân giải giữa pic tương ứng với cefazolin và tạp chất I không được nhỏ hơn 2,0.

Tiêm riêng rẽ dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính (ở 210 nm hoặc 254 nm) không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %). Tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 3,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (3,5 %). Bỏ qua các pic của dung môi và những pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất E: 5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-thiol (MMTD).

Tạp chất F: Acid (1*H*-tetrazol-1-yl)acetic.

Tạp chất I: Acid cefazoloic.

Tạp chất J: Acid hydrolysed cefazoloic.

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Nước

Không được quá 6,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào khác để tiết khuẩn thì phải đáp ứng phép thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,15 IU/mg. Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào khác để xác định nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng phép thử “Nội độc tố vi khuẩn” (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm phosphat (10 : 90).

Dung dịch đệm phosphat: Hòa tan 2,77 g *dinatri-hydrophosphat (TT)* và 1,86 g *acid citric (TT)* trong nước và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi.

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

Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan 50,0 mg cefazolin natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn (2): Hòa tan 5,0 mg cefuroxim natri chuẩn trong 10,0 ml dung dịch đối chiếu (1), pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 270 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm : 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký.

Tiêm dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa hai pic cefazolin và cefuroxim không được nhỏ hơn 2,0.

Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn (1) và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và dựa vào hàm lượng $C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$ của cefazolin natri chuẩn, tính hàm lượng cefazolin natri, $C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$, có trong một đơn vị chế phẩm.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng. Nếu là chế phẩm vô khuẩn phải bảo quản trong lọ tiệt trùng, kín, tránh nhiễm khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, dung dịch nhỏ mắt.

BỘT PHA TIÊM CEFAZOLIN***Cefazolini pro injectione***

Bột pha tiêm cefazolin là bột kết tinh vô khuẩn của cefazolin natri đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với nước vô khuẩn để tiêm ngay trước khi dùng.

Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cefazolin, $C_{14}H_{14}N_8O_4S_3$, phải đạt từ 90,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Tinh thể hoặc bột kết tinh màu trắng ngà.

Định tính

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

B. Chế phẩm phải có phản ứng đặc trưng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm

pH của dung dịch chế phẩm 10,0 % trong nước không có carbon dioxyd (TT) từ 4,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Độ trong của dung dịch

Dung dịch chế phẩm 10,0 % trong nước không có carbon dioxyd (TT) phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ của dung dịch trên ở bước sóng 430 nm không quá 0,15 (Phụ lục 4.1).

Nước

Không được quá 6,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,3 g bột thuốc.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - acetone - ethyl acetat (10 : 10 : 20 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng thích hợp chế phẩm trong nước để được dung dịch có nồng độ cefazolin 5,0 %.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 25 thể tích với nước.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 3 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích với nước.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 50 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng trong luồng khí nitrogen. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Kiểm tra dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Tiếp tục đặt bản mỏng trong bình bão hòa hơi iod cho tới khi các vết xuất hiện rõ nhất và quan sát. Trên sắc ký đồ, quan sát bằng cả hai cách, bất kỳ một vết phụ nào của dung dịch thử đều không được đậm hơn vết của dung dịch đối chiếu (1) (4 %) và không được có quá một vết đậm hơn vết của dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %).

Nội độc tố vi khuẩn

Tiến hành theo Phép thử nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2).

Hòa tan một lượng chế phẩm trong nước BET để thu được dung dịch có nồng độ cefazolin 10 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 1,5 đơn vị trong 1 ml. Giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch có chứa dinatri hydrophosphat khan 0,277 % và acid citric 0,186 % (10 : 90).

Dung dịch thử: Cân chính xác và hòa tan một lượng chế phẩm trong nước để được dung dịch có nồng độ cefazolin khoảng 0,1 %.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch cefazolin natri chuẩn 0,1 % trong nước.

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa cefazolin natri chuẩn 0,01 % và cefuroxim natri chuẩn 0,005 % trong nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5µm đến 10 µm) (Spherisorb ODS 1 là thích hợp).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm dung dịch phân giải, điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của pic đạt ít nhất 50 % chiều cao thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic của cefazolin và cefuroxim không nhỏ hơn 2,0. Điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động để đạt yêu cầu trên, nếu cần.

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

Tính hàm lượng cefazolin, C₁₄H₁₄N₈O₄S₃, trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, và hàm lượng C₁₄H₁₄N₈O₄S₃, của cefazolin natri chuẩn.

Bảo quản

Để ở nơi khô, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

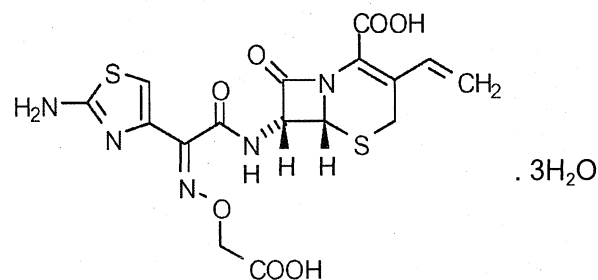
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg, 1000 mg.

CEFIXIM

Cefiximum



C₁₆H₁₅N₅O₇S₂·3H₂O

P.t.l: 507,5

Cefixim là acid (6R,7R)-7-[[[(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(carboxymethoxy)imino]acetyl]amino]-3-ethenyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic trihydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, tính theo chế phẩm khan và không có ethanol.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng, hơi hút ẩm. Ít tan trong nước, tan trong methanol, hơi tan trong ethanol, thực tế không tan trong ethyl acetat.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A

Nhóm II: B, C

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cefixim chuẩn. Nếu phổ thu được của chế phẩm thử khác với phổ của chất chuẩn, hòa tan riêng biệt chất thử và chất chuẩn trong *methanol* (TT), sau đó bốc hơi dịch thu được tới khô và đo phổ mới của các căn thu được.

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel F_{254} đã được silan hóa.

Dung môi khai triển: *Methyl acetat* - *dung dịch amoni acetat* 15,4 % đã được điều chỉnh trước tới pH 6,2 bằng *acid acetic* (10 : 90).

Dung môi pha mẫu (dung dịch A): Hỗn hợp *methanol* - *dung dịch đệm phosphat* 0,067 M pH 7,0 (1 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong dung dịch A vừa đủ 5 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg cefixim chuẩn trong dung dịch A vừa đủ 5 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg cefixim chuẩn và 20 mg ceftriaxon natri chuẩn trong dung dịch A vừa đủ 5 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.

C. Cho phản ứng B trong phép thử Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).

pH

Phân tán 0,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. pH (Phụ lục 6.2) của hỗn dịch thu được phải từ 2,6 đến 4,1.

Ethanol

Không được quá 1,0 % (kl/kl) (Phụ lục 10.12), xác định bằng phương pháp sắc ký khí head-space (Phụ lục 5.2), dùng phương pháp thêm chuẩn.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp *dimethylacetamid* - *nước* (1 : 4), pha loãng dung dịch thu được thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng như đã mô tả trong mục Định lượng.

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ thu được ít nhất là 50 % thang đo. Tiêm dung dịch thử và tiếp tục chạy sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic chính. Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào, ngoại trừ pic chính, không được lớn hơn một nửa diện tích pic chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %); tổng diện tích của tất cả các pic, ngoại trừ pic chính, không được quá 3 lần diện tích của pic chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (3 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính thu được của dung dịch đối chiếu (2).

Nước

Từ 9,0 đến 12,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril* - *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd* (250 : 750).

Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd: Hòa tan 8,2 g *tetrabutylamoni hydroxyd* (TT) trong *nước* và pha loãng thành 800 ml với cùng dung môi; điều chỉnh tới pH 6,5 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng* (TT) và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm thử trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg cefixim chuẩn trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

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

Dung dịch phân giải: Hòa tan 10 mg cefixim chuẩn trong 10 ml *nước*. Đun nóng trên cách thủy trong 45 phút. Để nguội và tiêm ngay lập tức.

Điều kiện sắc ký:

Cột (0,125 m $\times$ 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m). Nhiệt độ cột ở 40 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải, điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của các pic chính ít nhất bằng 20 % của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic chính (cefixim và dạng đồng phân E) ít nhất là 2,0. Nếu cần, điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động. Tiêm dung dịch đối chiếu (1) 6 lần. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefixim không lớn hơn 1,0 %. Tiếp tục tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng của $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic đáp ứng của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng được công bố của $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$ trong cefixim chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng khuẩn.

Chế phẩm

Viên bao.

VIÊN NÉN CEFIXIM

Tabellae Cefiximi

Là viên nén bao phim chứa cefixim.

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

Hàm lượng cefixim khan, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao màu đồng đều. Bên trong của viên có màu trắng.

Định tính

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

Nước

Không được quá 10,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,3 g bột viên đã nghiền mịn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 7,2 được chuẩn bị như sau: Hòa tan 6,8 g kali dihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước và điều chỉnh đến pH 7,2 bằng dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng có hấp thụ cực đại khoảng 288 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng cefixim, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch cefixim chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng dung môi. [Lưu ý: Có thể sử dụng một lượng methanol không quá 0,1 % tổng thể tích của dung dịch chuẩn để hòa tan chất chuẩn trước khi pha loãng bằng môi trường hòa tan và có thể lắng siêu âm].

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % lượng cefixim, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd: Pha loãng 25 ml dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,4 M với nước vừa đủ 1000 ml, điều chỉnh đến pH 6,5 bằng dung dịch acid phosphoric 1,5 M (TT).

Pha động: Hỗn hợp 250 thể tích acetonitril (TT) và 750 thể tích dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd.

Dung dịch kali dihydrophosphat: Hòa tan 6,8 g kali dihydrophosphat (TT) trong nước vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0: Hòa tan 7,1 g dinatri hydrophosphat khan (TT) trong nước vừa đủ 500 ml. Điều chỉnh tới pH 7,0 bằng dung dịch kali dihydrophosphat.

Dung dịch phân giải: Hòa tan cefixim chuẩn trong nước để thu được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml. Làm nóng dung dịch trên trong cách thủy ở 95 °C trong 45 phút. Để nguội, lọc và sử dụng ngay.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefixim chuẩn trong dung dịch đệm phosphat pH 7,0 để thu được dung dịch có nồng độ cefixim khoảng 0,1 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên đã loại bỏ lớp bao phim và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,2 g cefixim khan vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 và lắc siêu âm 15 phút. Pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Hút chính xác 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm), duy trì ở nhiệt độ 40 °C.

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

Tốc độ dòng: Điều chỉnh sao cho thời gian lưu của cefixim khoảng 10 phút.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, độ phân giải giữa 2 pic cefixim và cefixim E-isomer không nhỏ hơn 2,0.

Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefixim không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng cefixim khan, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$ của cefixim chuẩn.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

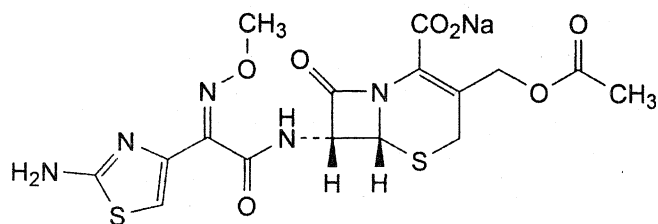
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

100 mg.

CEFOTAXIM NATRI

Cefotaximum natrium



$C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$

P.t.l: 477,4

Cefotaxim natri là (6R,7R)-3-[(acetyloxy)methyl]-7-[[[(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat natri, phải chứa từ 96,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột trắng hoặc hơi vàng, hút ẩm, dễ tan trong nước, hơi tan trong methanol, thực tế không tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cefotaxim natri chuẩn.

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel HF₂₅₄ đã silan hóa.

Dung môi khai triển: Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % đã được điều chỉnh trước tới pH 6,2 bằng acid acetic (15 : 85).

Dung môi pha mẫu (dung dịch A): Hỗn hợp methanol - dung dịch đệm phosphat 0,067 M pH 7,0 (1 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong dung dịch A và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg cefotaxim natri chuẩn trong dung dịch A và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg cefotaxim natri chuẩn và 20 mg cefoxitin natri chuẩn trong dung dịch A và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ.

C. Cho phản ứng B trong phép thử Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).

D. Chế phẩm cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2). Thêm 1 ml acid acetic băng (TT) vào 10 ml dung dịch S. Quan sát ngay, dung dịch thu được phải trong. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch S đo ở bước sóng 430 nm không được quá 0,20.

pH

pH của dung dịch S từ 4,5 đến 6,5.

Góc quay cực riêng

Từ +58° đến +64°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng nước. Giá trị A (1 %, 1 cm) ở 235 nm phải từ 360 đến 390, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng như đã mô tả trong mục Định lượng.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Chạy sắc ký dung dịch thử trong thời gian ít nhất là 8 lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, bất kỳ pic nào, trừ pic chính, không được có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính trong dung dịch đối chiếu (2) (1 %); tổng diện tích của các pic phụ này không lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (3 %).

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic

Không được quá 0,5 % (khối lượng/khối lượng) (Phụ lục 10.17).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 100 °C đến 105 °C).

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng trong sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào để diệt khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu về Phép thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,05 IU/mg (Phụ lục 13.2), nếu chế phẩm dự định dùng trong sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào loại bỏ nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 3,5 g kali dihydrophosphat (TT) và 11,6 g dinatri hydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước pH 7,0 và thêm 180 ml methanol (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg cefotaxim natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

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

Dung dịch phân giải: Thêm 1,0 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT) vào 4,0 ml dung dịch thử. Đun nóng dung dịch thu được ở 40 °C trong 2 giờ. Thêm 5,0 ml dung dịch đệm phosphat pH 6,6 và 1,0 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột (0,25 m × 4,6 mm) được nhồi octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 235 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch phân giải, điều chỉnh độ rộng của thang đo sao cho chiều cao các pic chính của dung dịch phân giải ít nhất bằng 50 % của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi cefotaxim được rửa giải như là pic chính thứ hai và độ phân giải giữa 2 pic chính ít nhất là 3,5. Nếu cần, dùng pha tĩnh khác hoặc điều chỉnh nồng độ methanol trong pha động. Phép thử không có giá trị khi hệ số đối xứng của pic cefotaxim lớn hơn 2,0. Tiêm dung dịch đối chiếu (1) 6 lần. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefotaxim không lớn hơn 1,0 %. Tiếp tục tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản

Trong đồ đựng kín và tránh ánh sáng, bảo quản ở nhiệt độ không quá 30 °C. Nếu chế phẩm vô khuẩn thì bảo quản trong đồ đựng kín vô khuẩn.

Nhãn

Chế phẩm là vô khuẩn thì trên nhãn phải ghi là vô khuẩn.

Chế phẩm không có nội độc tố vi khuẩn thì trên nhãn phải ghi là không có nội độc tố vi khuẩn.

Loại thuốc

Thuốc kháng khuẩn.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM CEFOTAXIM**Cefotaximi pro injectione**

Bột pha tiêm cefotaxim là bột thuốc vô khuẩn chứa cefotaxim natri, có thể có tá dược và đóng trong đồ đựng kín.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cefotaxim, $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc vàng nhạt, đồng nhất, không bị ẩm, vón.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cefotaxim natri chuẩn (Phụ lục 4.2).

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

C. Chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid

Dung dịch S: Dung dịch chế phẩm chứa cefotaxim 10,0 % pha trong nước không có carbon dioxyl (TT). Dung dịch S phải có pH từ 4,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ của dung dịch S ở bước sóng 430 nm không được lớn hơn 0,60 (Phụ lục 4.1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động và điều kiện sắc ký được thực hiện như mô tả ở phần Định lượng

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ cefotaxim 0,1 %.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cefotaxim natri chuẩn 0,0011 % trong pha động.

Lưu ý: Sử dụng các dung dịch ngay sau khi chuẩn bị.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp 8 lần thời gian lưu của pic cefotaxim (khoảng 6 phút) và ghi lại sắc đồ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào cũng không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %) và tổng diện tích của tất cả các pic phụ đó không được lớn hơn 4 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4,0 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).

Cân chính xác khoảng 1,0 g bột thuốc, sấy ở 100 °C đến 105 °C.

Nội độc tố vi khuẩn

Hòa tan một lượng chế phẩm trong nước BET (TT) để thu được dung dịch có nồng độ 10 mg/ml cefotaxim (dung dịch A). Giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 0,5 IU/ml (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 3,5 g kali dihydrophosphat (TT) và 11,6 g dinatri hydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước pH 7,0, thêm 375 ml methanol (TT).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng thích hợp cefotaxim natri chuẩn và hòa tan trong pha động để được dung dịch có nồng độ cefotaxim khoảng 0,01 %.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm sau đó hòa tan trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ cefotaxim khoảng 0,01 %.

Dung dịch phân giải: Thêm 1 ml dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT) vào 4 ml dung dịch thử, làm nóng dung dịch ở 40 °C trong 2 giờ. Thêm 5 ml dung

dịch đệm phosphat pH 6,6 (TT) và 1 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT) và trộn đều.

Lưu ý: Sử dụng các dung dịch ngay sau khi chuẩn bị.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm)

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 235 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn và dung dịch phân giải. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của các pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải ít nhất bằng 50 % thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi cefotaxim được rửa giải là pic thứ hai và độ phân giải giữa hai pic chính không nhỏ hơn 3,5. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic cefotaxim trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn nhỏ hơn 2,0.

Trong điều kiện sắc ký nêu trên, thời gian lưu của pic cefotaxim khoảng 6 phút. Nếu cần có thể sử dụng pha tĩnh khác hoặc điều chỉnh nồng độ của methanol trong pha động.

Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng cefotaxim, $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic của cefotaxim thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng cefotaxim natri chuẩn.

1 mg cefotaxim natri, $C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$, tương ứng với 0,9539 mg cefotaxim, $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$.

Bảo quản

Trong lọ kín.

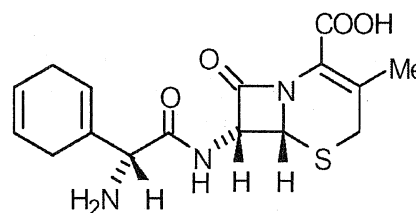
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

1 g.

CEFRADIN**Cefradinum**

$C_{16}H_{19}N_3O_4S$

P.t.l: 349,4

Cefradin là acid (6R,7R)-7-[[(2R)-2-amino-2-(cyclohexa-1,4-dienyl)acetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic, phải chứa ít nhất 90,0 % $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, tính theo chế phẩm khan. Tổng hàm lượng phần trăm của $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ và cefalexin ($C_{16}H_{17}N_3O_4S$, P.t.l: 347,4) từ 95,0 % đến 102,0 %, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột trắng hoặc hơi vàng, hút ẩm, hơi tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A

Nhóm II: B, C

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cefradin chuẩn. Nếu hai phổ đo được không phù hợp, hòa tan riêng biệt 30 mg chế phẩm và chất chuẩn trong 10 ml *methanol* (TT), bốc hơi các dung dịch tới khô ở 40 °C và áp suất dưới 2 kPa, ghi phổ mới các cần thu được.

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel HF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Aceton - dung dịch amoni acetat 15 % đã được điều chỉnh tới pH 6,2 bằng acid acetic khan (15 : 85).

Dung môi pha mẫu (dung dịch A): Methanol - dung dịch đệm phosphat 0,067 M pH 7,0 (1 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong dung dịch A vừa đủ 5,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg cefradin chuẩn trong dung dịch A vừa đủ 5,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg cefradin chuẩn và 20 mg cephalixin chuẩn trong dung dịch A vừa đủ 5,0 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô và quan sát sắc ký dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ.

C. Cho phản ứng B trong phép thử Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong dung dịch natri carbonat (TT), pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S không đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2). Để yên dung dịch S trong 5 phút. Độ hấp thụ của dung dịch S, đo ở bước sóng 450 nm (Phụ lục 4.1) không được quá 0,60.

pH

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. pH (Phụ lục 6.2) của dung dịch thu được từ 3,5 đến 6,0.

Góc quay cực riêng

Từ +80° đến +90°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong dung dịch đệm acetat pH 4,6 (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch đo ở bước sóng 330 nm không được quá 0,05. Pha loãng 2,0 ml dung dịch trên thành 50,0 ml bằng nước. Phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch pha loãng ở trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 300 nm, có cực đại ở bước sóng 262 nm. Giá trị A (1 %, 1 cm) ở 262 nm phải từ 215 đến 240, tính theo chế phẩm khan.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel G. Thấm bản mỏng bằng cách triển khai với dung dịch tetradecan 5% (tt/tt) trong hexan. Để bay hơi dung môi và tiến hành chạy sắc ký cùng chiều với chiều thấm bản mỏng.

Dung môi khai triển: Aceton - dung dịch dinatri hydrophosphat 7,2 % - dung dịch acid citric 2,1 % (3 : 80 : 120).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong dung dịch acid hydrochloric loãng (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng dung dịch acid hydrochloric loãng (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg acid 7-amino-desacetoxycephalosporanic chuẩn trong dung dịch acid hydrochloric loãng (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi (dung dịch đối chiếu 2'). Pha loãng 1 ml dung dịch trên thành 10 ml bằng dung dịch acid hydrochloric loãng (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 25 mg cyclohexa-1,4-dienylglycin chuẩn trong dung dịch acid hydrochloric loãng (TT) và pha loãng tới 10 ml với cùng dung môi (dung dịch đối chiếu 3'). Pha loãng 1 ml dung dịch trên thành 10 ml bằng dung dịch acid hydrochloric loãng (TT).

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong hỗn hợp 1 ml dung dịch đối chiếu 2' và 1 ml dung dịch đối chiếu 3' và pha loãng thành 10 ml bằng acid hydrochloric loãng (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và sấy ở 90 °C trong 3 phút. Phun khi bản mỏng còn đang nóng với *dung dịch ninhydrin 0,1 %* trong dung môi khai triển. Sấy bản mỏng ở 90 °C trong 15 phút, sau đó để nguội. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử: Vết tương ứng với acid 7-aminodesacetoxycephalosporanic không được đậm hơn vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %); vết tương ứng với cyclohexa-1,4-dienylglycin (xác định vị trí của vết bằng cách so sánh với sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4)) không được đậm hơn vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %); bất kỳ vết nào, trừ vết chính và các vết tương ứng với 7-amino-desacetoxycephalosporanic và cyclohexa-1,4-dienylglycin, không được đậm hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) cho 3 vết tách rõ ràng.

Cephalexin

Không được quá 5,0 %, tính theo chế phẩm khan. Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) như mô tả trong mục Định lượng. Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2).

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Nước

Không được quá 6,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acid acetic loãng - dung dịch natri acetat 3,62 % - methanol - nước (1 : 17 : 200 : 782).

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

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg cefradin chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg cefradin chuẩn và 10,0 mg cephalaxin chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m hoặc 10 μ m).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (2), điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của các pic ít nhất bằng một nửa thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với cephalaxin và cefradin ít nhất là 4. Nếu cần, điều chỉnh nồng độ methanol trong pha động. Tiêm dung dịch đối chiếu (1) 6 lần. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefradin không lớn hơn 1,0 %. Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Tính hàm lượng (%) của cefradin và cephalaxin.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín và tránh ánh sáng, ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc

Thuốc kháng khuẩn.

Chế phẩm

Nang, hỗn dịch uống.

NANG CEFRADIN

Capsulae Cefradini

Là nang cứng chứa cefradin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cephalosporin, tính theo tổng của cefradin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, và cephalaxin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với hàm lượng cefradin ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng nhẵn bóng, không méo mó, bột thuốc bên trong đồng nhất.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel không có chất kết dính dày 0,25 mm, được chuẩn bị như sau: Đặt bản mỏng trong bình sắc ký có chứa hỗn hợp dung môi *n-hexan - tetradecan* (95 : 5) ngập khoảng 1 cm, để dung môi di chuyển theo chiều dài của bản mỏng, sau đó lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký và để dung môi bay hơi.

Dung môi khai triển: Dung dịch acid citric 0,1 M - dung dịch dinatri hydrophosphat 0,1 M - dung dịch ninhydrin trong acetone (TT) có nồng độ 1 g trong 15 ml (60 : 40 : 1,5).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 30 mg cefradin, hòa tan trong 10 ml nước, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cefradin chuẩn 0,3 % trong nước.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra để khô

ngoài không khí và sấy ở 110 °C trong 10 phút và quan sát dưới ánh sáng thường.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

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

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 7,0 % (Phụ lục 9.6).

Cân chính xác khoảng 100 mg bột chế phẩm, sấy trong chân không dưới áp suất giảm 5 mmHg ở 60 °C trong 3 giờ.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,12 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 255 nm, cốc đo dày 1cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng cephalosporin bằng cách tính tổng lượng cefradin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, và cephalaxin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, hòa tan trong mỗi viên so sánh với dung dịch cefradin chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng dung môi.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % lượng cefradin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút, tính theo tổng cefradin và cephalaxin.

Cephalaxin

Không quá 10,0 % tổng cefradin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ và cephalaxin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$.

Tính hàm lượng phần trăm cephalaxin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic cephalaxin và diện tích pic cefradin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử ở mục Định lượng.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp nước - methanol - dung dịch natri acetat 0,5 M - dung dịch acid acetic 0,7 M (782 : 200 : 15 : 3).

Dung dịch chuẩn: Dung α₁₋₁₁ cefradin chuẩn 0,05 % trong pha động.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của thuốc trong nang, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg cefradin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động và lắc siêu âm 15 phút. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.

Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng cefradin chuẩn và cephalaxin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml mỗi chất.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm đến 10 μm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, trên sắc ký đồ thu được phải có thời gian lưu tương đối khoảng 0,8 cho cephalaxin và 1,0 cho cefradin; độ phân giải giữa hai pic cephalaxin và cefradin không nhỏ hơn 2,0. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefradin không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng cephalosporin có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào tổng diện tích pic của cephalaxin và cefradin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và tổng hàm lượng cefradin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, và cephalaxin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, của cefradin chuẩn.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

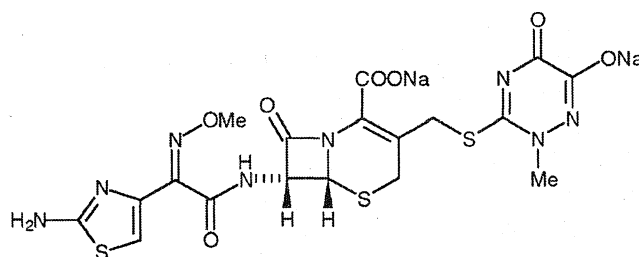
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg.

CEFTRIAXON NATRI

Ceftriaxonum natrium



$C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3 \cdot 3\frac{1}{2}H_2O$

P.t.l: 662

Ceftriaxon natri là muối dinatri của acid (6R,7R)-7-[[[(Z)-(2-aminothiazol-4-yl)(methoxy-imino) acetyl]-amino-3-[[[(2-methyl-6-oxido-5-oxo-2,5-dihydro 1,2,4- triazin-3-yl)sulphonyl]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo- [4.2.0]-

oct-2-en-2-carboxylic, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc hơi vàng, hơi hút ẩm. Dễ tan trong nước, ít tan trong methanol, rất ít tan trong ethanol.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ceftriaxon natri chuẩn.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,40 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Pha loãng 2 ml dung dịch S với nước thành 20 ml. Dung dịch này phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu của dung dịch chuẩn V_5 hoặc VN_5 (Phụ lục 9.3).

pH

Từ 6,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.1).

Dùng dung dịch S.

Góc quay cực riêng

Từ -155° đến -170° , tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

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

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký được mô tả ở phần định lượng.

Dung dịch thử: Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử với pha động A thành 100 ml.

Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu và tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp hai lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1,0 %); và tổng diện tích của tất cả các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn bốn lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (4,0 %).

Bỏ qua các pic của dung môi và những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu.

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic

Không được quá 0,8 % (kl/kl).

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 10.17).

Nước

Từ 8,0 % đến 11,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,100 g.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào khác để diệt khuẩn thì phải đáp ứng phép thử “Thử vô khuẩn” (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,20 IU/mg. Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng phép thử “Nội độc tố vi khuẩn” (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0: Hòa tan 13,6 g *dikali hydrophosphat* (TT) và 4,0 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong 1000 ml nước. Điều chỉnh pH của dung dịch này về pH $7,0 \pm 0,1$ bằng *acid phosphoric*(TT) hoặc *dung dịch kali hydroxyd 10 N* (TT).

Dung dịch đệm citrat pH 5,0: Hòa tan 25,8 g *natri citrat* (TT) trong 500 ml nước, điều chỉnh pH về $5,0 \pm 0,1$ bằng *dung dịch acid citric 20 %*, thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Pha động: Chuẩn bị một hỗn hợp đã được lọc và đuổi khí của pha động A và pha động B (100 : 10).

Pha động A: Hòa tan 4,0 g *tetrabutylamoni iodid* (TT) trong 400 ml nước, thêm 44 ml *dung dịch đệm phosphat pH 7,0* và 4 ml *dung dịch đệm citrat pH 5,0*, pha loãng với nước thành 1000 ml.

Pha động B: *Acetonitril* (TT).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan chính xác một lượng ceftriaxon natri chuẩn trong pha động A để thu được một dung dịch có nồng độ khoảng 0,2 mg/ml. Dùng dung dịch này ngay sau khi pha.

Dung dịch thử: Được chuẩn bị như dung dịch chuẩn nhưng thay ceftriaxon natri chuẩn bằng chế phẩm.

Dung dịch xác định độ phân giải: Hòa tan 4 mg ceftriaxon natri chuẩn và 4 mg cefotaxim natri chuẩn trong 25 ml pha động A. Dùng dung dịch này ngay sau khi pha.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (12,5 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 270 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch xác định độ phân giải. Độ phân giải giữa hai pic cefotaxim natri và ceftriaxon natri không được nhỏ hơn 2. Tiêm 6 lần dung dịch chuẩn, hiệu lực cột không được nhỏ hơn 1100 số đĩa lý thuyết, hệ số bất đối của pic chính không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ceftriaxon natri phải nhỏ hơn 2,0 %. Nếu cần thiết điều chỉnh lại nồng độ acetonitril trong pha động.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng của ceftriaxon natri ($C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3$) từ diện tích pic của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của ceftriaxon natri chuẩn.

Bảo quản

Bảo quản trong lọ kín, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn phải đựng trong lọ đã được tiệt trùng, kín, tránh nhiễm khuẩn.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM CEFTRIAXON***Ceftriaxon pro injectione***

Bột pha tiêm ceftriaxon là bột kết tinh vô khuẩn của ceftriaxon natri đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với dung môi ngay trước khi dùng.

Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ceftriaxon, $C_{18}H_{16}N_8O_7S_3$, phải đạt từ 92,0 % đến 108,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Tinh thể hoặc bột kết tinh trắng ngà.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ceftriaxon natri chuẩn.

B. Trong phép thử định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ceftriaxon trong sắc ký đồ của dung dịch ceftriaxon natri chuẩn.

C. Có phản ứng đặc trưng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm

Dung dịch 10 % chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) phải có pH từ 6,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Độ trong của dung dịch

Dung dịch 1,2 % chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) phải trong (Phụ lục 9.2).

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng như trong mục định lượng, với thời gian sắc ký ít nhất là 2 lần thời gian lưu của pic chính. Diện tích của bất kỳ pic phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử đều không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử loãng (1 %) và tổng diện tích của tất cả các pic phụ trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử loãng (5 %). Bỏ qua bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 10 % diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử loãng.

Nước

Không được quá 11,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,2 g chế phẩm.

Nội độ tổ vi khuẩn (Phụ lục 13.2)

Hòa tan một lượng chế phẩm trong nước BET để thu được dung dịch có nồng độ ceftriaxon 10 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độ tổ của dung dịch A là 2,0 đơn vị nội độ tổ trong 1 ml. Giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 2 g *tetradecylamoni bromid* (TT) và 2 g *tetraheptylamoni bromid* (TT) trong một hỗn hợp gồm 440 ml nước và 55 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT) và 5 ml dung dịch đệm citrat pH 5,0 (điều chế bằng cách hòa tan 20,17 g acid citric (TT) trong 800 ml nước, điều chỉnh tới pH 5,0 bằng dung dịch natri hydroxyd 10 N (TT) và pha loãng bằng nước tới 1000 ml), sau đó trộn đều với 500 ml acetonitril (TT).

Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ để tính khối lượng trung bình của thuốc trong một đơn vị chế phẩm, trộn đều. Cân chính xác một lượng chế phẩm, hòa tan trong pha động để được dung dịch có nồng độ ceftriaxon 0,030 %.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch ceftriaxon natri chuẩn 0,030 % trong pha động.

Dung dịch phân giải: Là dung dịch chứa ceftriaxon natri chuẩn 0,0050 % và ceftriaxon natri E-isomer chuẩn 0,0050 % trong pha động.

Dung dịch thử loãng: Pha loãng một thể tích dung dịch thử thành 100 thể tích với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm) (Lichrosphere RP - 18 là thích hợp).

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

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của các

pic ít nhất bằng 50 % của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic chính của dung dịch phân giải không nhỏ hơn 3,0.

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

Tính hàm lượng ceftriaxon, $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$, trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn và dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$ của ceftriaxon natri chuẩn.

1 mg ceftriaxon natri ($C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3 \cdot 3\frac{1}{2}H_2O$) tương ứng với 0,8383 mg ceftriaxon ($C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$).

Bảo quản

Nơi khô ráo, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

Kháng sinh.

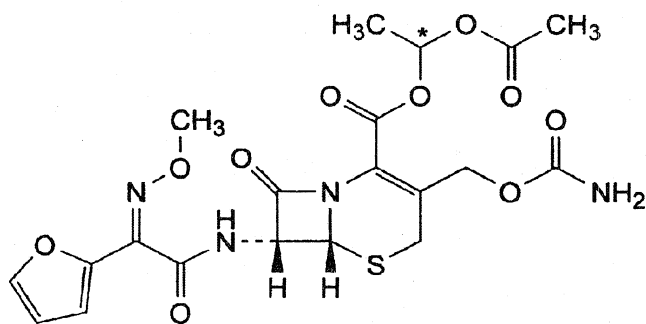
Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg và 1000 mg, tính theo ceftriaxon.

Nếu đề tiêm bắp thì khi dùng thường phải pha thuốc trong mỗi lọ bằng một ống thuốc tiêm lidocain (3,5 ml, chứa 35 mg lidocain $C_{14}H_{22}N_2O \cdot HCl \cdot H_2O$).

CEFUROXIM AXETIL

Cefuroximum axetili



$C_{20}H_{22}N_4O_{10}S$

P.t.l: 510,5

Cefuroxim acetil là hỗn hợp của hai đồng phân không đối quang của (1RS)-1-(acetyloxy)ethyl (6R,7R)-3-[(carbamoyloxy)methyl]-7-[[[(Z)-2-(furan-2-yl)-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % của $C_{20}H_{22}N_4O_{10}S$, tính theo chế phẩm khan và không có aceton.

Tính chất

Bột trắng hoặc trắng ngà, ít tan trong nước, tan trong aceton, ethyl acetat và methanol, ít tan trong ethanol.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cefuroxim axetil chuẩn.

B. Trong phần định lượng, thời gian lưu và diện tích của các pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung

dịch thử phải tương ứng với các đồng phân cefuroxim axetil A và cefuroxim axetil B trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn (4).

Tỉ lệ các đồng phân

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) được mô tả ở phần định lượng. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, tỉ lệ diện tích pic của đồng phân cefuroxim axetil A so với tổng diện tích pic của hai đồng phân cefuroxim axetil A và B từ 0,48 đến 0,55 theo điều kiện phân tích đã được xây dựng.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) được mô tả ở phần định lượng. Tính hàm lượng phần trăm của tạp chất liên quan từ diện tích của các pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần tổng diện tích của hai pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (1). Tổng diện tích của hai pic tương ứng với E-isomer được xác định bằng cách so sánh với sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (3) không được quá 1,0 %, tổng diện tích của hai pic tương ứng với D³-isomer được xác định bằng cách so sánh với sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (2) không được quá 1,5 %, và diện tích của bất kỳ pic tạp nào khác không được lớn hơn 0,5 %. Tổng diện tích pic các tạp chất không được lớn hơn 3,0 %.

Aceton

Không được quá 1,1 %.

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Cân khoảng 0,5 g *propanol* (TT) hòa trong *dimethyl sulfoxid* (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch này pha loãng thành 100 ml bằng *dimethyl sulfoxid*, lắc đều.

Dung dịch đối chiếu: Cân chính xác khoảng 0,5 g *aceton* (TT) hòa tan trong *dimethyl sulfoxid* (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch này pha loãng thành 100 ml bằng *dimethyl sulfoxid* (TT), lắc đều.

Lấy 5,0 ml dung dịch thu được vào lọ đựng mẫu (kiểu head-space), thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội, đậy nắp kín. Đun nóng lọ ở 90 °C trong 25 phút.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,1 g chế phẩm vào lọ đựng mẫu, thêm 5,0 ml *dimethyl sulfoxid*, thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội, đậy nắp kín, lắc đều. Đun nóng lọ ở 90 °C trong 25 phút.

Điều kiện sắc ký:

Cột OVI-G43 (30 m × 0,53 mm, 3 μm) hoặc cột tương đương (có pha tĩnh là 6 % *cyanopropylphenyl* - 94 % *dimethylpolysiloxan*).

Nhiệt độ cột: Duy trì ở 40 °C trong 6 phút, tăng lên 60 °C với tốc độ 5 °C/min, tăng lên 210 °C với tốc độ 30 °C/min và giữ trong 5 phút.

Buồng tiêm: 150 °C, không chia dòng.

Detector ion hóa ngọn lửa: 260 °C.

Khí mang: Nitơ hoặc heli, tốc độ dòng 3,9 ml/min (18 kPa).

Thiết bị lấy mẫu pha hơi:

Đặt nhiệt độ của vòng tiêm mẫu: 90 °C

Nhiệt độ của đường dẫn mẫu: 100 °C.

Thời gian cân bằng áp suất lọ đựng mẫu: 0,2 min.

Thời gian lấy mẫu: 0,2 min.

Thời gian tiêm mẫu: 1 min.

Cách tiến hành:

Tiêm pha hơi của 6 dung dịch đối chiếu, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích của mỗi pic dung môi của 6 lần tiêm không được lớn hơn 15 %.

Tiêm lần lượt pha hơi của dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Tính hàm lượng các dung môi dựa vào diện tích pic đáp ứng và nồng độ các dung môi trong dung dịch đối chiếu.

Nước

Không được quá 1,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,400 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - amoni dihydrophosphat 2,3 % (38 : 62).

Dung dịch thử (chuẩn bị ngay trước khi dùng): Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng pha động.

Dung dịch chuẩn (2): Đun cách thủy 5 ml dung dịch thử ở 60 °C trong 1 giờ để tạo ra Δ^3 -isomer.

Dung dịch chuẩn (3): Đặt 5 ml dung dịch thử dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm trong 24 giờ để tạo ra E-isomer.

Dung dịch chuẩn (4) (chuẩn bị ngay trước khi dùng): Hòa tan 20,0 mg cefuroxim axetil chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột (150 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (octadecylsilyl silica gel, 5 μ m), (cột Purospher STAR RP 18e là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại ở 278 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Tiêm lần lượt từng dung dịch chuẩn (1), (2), (3), (4). Tỷ lệ thời gian lưu tương đối so với đồng phân cefuroxim axetil A (pic thứ hai) khoảng 0,9 đối với đồng phân cefuroxim axetil B (pic thứ nhất); 1,2 đối với đồng phân cefuroxim axetil Δ^3 -isomer và từ 1,7 đến 2,1 đối với đồng phân cefuroxim axetil E-isomer. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn (4), độ phân giải giữa hai pic tương ứng với đồng phân cefuroxim axetil A và đồng phân

cefuroxim axetil B không nhỏ hơn 1,5. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn (2), độ phân giải giữa pic tương ứng với đồng phân cefuroxim axetil A và cefuroxim axetil Δ^3 -isomer không nhỏ hơn 1,5.

Tiêm 6 lần dung dịch chuẩn (4). Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của tổng diện tích pic của hai pic tương ứng với đồng phân cefuroxim axetil A và cefuroxim axetil B không lớn hơn 2,0 %.

Tiêm xen kẽ dung dịch chuẩn (4) và dung dịch thử. Tính hàm lượng phần trăm $C_{20}H_{22}N_4O_{10}S$ dựa vào tổng diện tích pic của hai đồng phân cefuroxim axetil A và cefuroxim axetil B và hàm lượng của $C_{20}H_{22}N_4O_{10}S$ trong cefuroxim axetil chuẩn đã công bố.

Bảo quản

Bảo quản trong chai kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN CEFUROXIM

Tabellae Cefuroximi

Là viên nén bao phim chứa cefuroxim axetil.

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

Hàm lượng cefuroxim, $C_{16}H_{16}N_4O_8S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao màu đồng đều. Bên trong của viên bao có màu trắng.

Định tính

A. Chiết một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 0,1 g cefuroxim với 5 ml dicloromethan (TT) và lọc. Bốc hơi dịch lọc đến cạn. Phổ hồng ngoại của cặn phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của cefuroxim axetil hay với phổ của cefuroxim axetil chuẩn (Phụ lục 4.2).

B. Trong mục Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử hai pic chính (cefuroxim axetil diastereoisomer A và cefuroxim axetil diastereoisomer B) phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường: 900 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 278 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch cefuroxim acetil chuẩn có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan. Tính toán hàm lượng cefuroxim hòa tan trong mỗi viên dựa theo hàm lượng cefuroxim, $C_{16}H_{16}N_4O_8S$, trong cefuroxim acetil chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % lượng cefuroxim so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Tạp chất liên quan

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử trong mục Định lượng, tổng diện tích của hai pic tương ứng với các pic E-isomer trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải (2) không được lớn hơn 1,5 % tổng diện tích tất cả các pic. Tổng diện tích của các pic tương ứng với pic Δ^3 -isomer trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải (1) không được lớn hơn 2,0 % tổng diện tích tất cả các pic. Diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn 1,0 % tổng diện tích tất cả các pic.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp 38 thể tích *methanol* (TT) và 62 thể tích *dung dịch amoni dihydrophosphat* 0,2 M.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefuroxim acetil chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,25 mg cefuroxim trong 1 ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên đã loại bỏ lớp bao phim và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 500 mg cefuroxim vào bình định mức 100 ml, thêm 5 ml *dung dịch amoni dihydrophosphat* 0,2 M đã được điều chỉnh tới pH 2,4 bằng *acid phosphoric* (TT), lắc kỹ và ngay lập tức thêm *methanol* (TT) vừa đủ đến vạch, trộn đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với pha động, trộn đều.

Dung dịch phân giải (1): Làm nóng dung dịch thử ở 60 °C trong 60 phút hoặc tới khi tạp Δ^3 -isomer có thể phát hiện được, lọc.

Dung dịch phân giải (2): Chiếu sáng dung dịch thử dưới ánh sáng tử ngoại (254 nm) trong 24 giờ hoặc tới khi tạp E-isomer có thể phát hiện được, lọc.

Lưu ý: Các dung dịch chuẩn và thử nếu không được sử dụng ngay thì phải bảo quản ở nơi tối, nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh trimethylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 µm) (cột Hypersil SAS là phù hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 278 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, dung dịch phân giải (1) và (2): Trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối khoảng 0,9 đối với cefuroxim acetil diastereoisomer B, 1,0 đối với cefuroxim acetil diastereoisomer A, 1,2 đối với Δ^3 -isomer, 1,7 và 2,1 đối với E-isomer. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic của cefuroxim acetil diastereoisomer A và cefuroxim acetil diastereoisomer B trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn; và giữa pic cefuroxim acetil diastereoisomer A và Δ^3 -isomer trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải (1) không nhỏ hơn 1,5. Nếu cần có thể điều chỉnh nồng độ của *methanol* (TT) trong pha động để đạt được yêu cầu trên. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của tổng diện tích pic cefuroxim acetil diastereoisomer A và cefuroxim acetil diastereoisomer B không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng cefuroxim, $C_{16}H_{16}N_4O_8S$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào tổng diện tích pic của cefuroxim acetil diastereoisomer A và cefuroxim acetil diastereoisomer B thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn, và hàm lượng $C_{16}H_{16}N_4O_8S$ trong cefuroxim acetil chuẩn.

1 mg cefuroxim acetil, $C_{20}H_{22}N_4O_{10}S$, tương đương với 0,8313 mg of cefuroxim, $C_{16}H_{16}N_4O_8S$.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

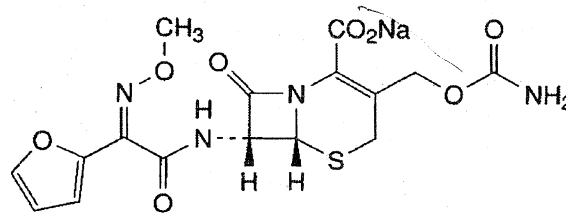
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

100 mg, 250 mg, 500 mg.

CEFUROXIM NATRI

Cefuroximum natrium



$C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$

P.t.l: 446,4

Cefuroxim natri là muối natri của acid (6*R*,7*R*)-3[(carbamoyloxy)methyl]-7-[[*(Z)*-(furan-2-yl)(methoxyimino)acetyl]amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng, hơi hút ẩm, dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cefuroxim natri chuẩn.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch S đo ở 450 nm không được lớn hơn 0,25.

pH

Từ 5,5 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Pha loãng 2 ml dung dịch S thành 20 ml với nước không có carbon dioxyl (TT).

Góc quay cực riêng

Từ +59° đến +66°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong dung dịch đệm acetat pH 4,6 (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn 1 thể tích acetonitril với 99 thể tích dung dịch đệm acetat pH 3,4, được chuẩn bị bằng cách hòa tan 6,01 g acid acetic băng (TT) và 0,68 g natri acetat (TT) trong nước và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch này với nước thành 50,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg cefuroxim natri chuẩn với nước và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này với nước thành 50,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Đun trong cách thủy 20 ml dung dịch đối chiếu (1) ở 80 °C trong 15 phút. Làm nguội và tiêm ngay.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) với nước thành 100 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là hexylsilyl silica gel dùng cho sắc ký, 5 μm.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 273 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic của cefuroxim và tạp chất A (descarbamoylcefuroxim) không được nhỏ hơn 2,0.

Tiêm dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (3). Tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1), diện tích của bất kỳ pic phụ nào cũng không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %); tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (3,0 %). Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic

Không được quá 0,5 % (kl/kl).

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 10.17).

Nước

Không được quá 3,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,400 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào khác để diệt khuẩn thì phải đáp ứng Phép thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,10 IU/mg. Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào để loại nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng phép thử “Nội độc tố vi khuẩn” (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký và cách tiến hành: Như mô tả trong mục xác định tạp chất liên quan. Sử dụng dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (1).

Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch đối chiếu và dựa vào hàm lượng của $C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$ trong cefuroxim natri chuẩn, tính hàm lượng của $C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$ trong chế phẩm.

Bảo quản

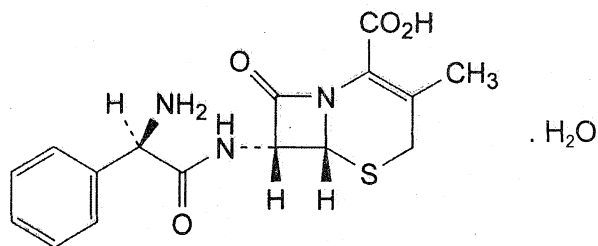
Bảo quản trong chai nút kín, tránh ánh sáng. Nếu là chế phẩm vô khuẩn phải đựng trong chai tiệt trùng, kín, chống nhiễm khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

CEPHALEXIN

Cephalexinum



$C_{16}H_{17}N_3O_4S \cdot H_2O$

P.t.l: 365,4

Cephalexin là acid (6*R*,7*R*)-7-[[*(2R)*-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo [4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic monohydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Hơi tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

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

pH

Hòa tan 50 mg chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. pH của dung dịch thu được phải từ 4,0 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +149° đến +158° tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong dung dịch đệm phthalat pH 4,4 (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 50 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ của dung dịch tại bước sóng 330 nm (Phụ lục 4.1) không được lớn hơn 0,05. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng nước. Phổ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được trong khoảng từ 220 nm đến 300 nm có cực đại hấp thụ tại 262 nm. Độ hấp thụ riêng tại cực đại hấp thụ có giá trị từ 220 đến 245, tính theo chế phẩm khan.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch đệm phosphat pH 5,0 (TT).

Pha động B: Methanol (TT).

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

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg D-phenylglycin chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg acid 7-aminodesacetoxycephalosporanic chuẩn trong 2 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT) và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (3): Hút 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) cho vào bình định mức dung tích 100,0 ml, thêm pha động A vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10 mg dimethylformamid (TT) và 10 mg dimethylacetamid (TT) trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 20,0 ml với pha động A.

Dung dịch đối chiếu (6): Hòa tan 10 mg cefotaxim natri chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Hút 1,0 ml dung dịch thu được, thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100 ml bằng pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Chương trình pha động:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 1	98	2
1 - 20	98 → 70	2 → 30
20 - 23	70 → 98	30 → 2
23 - 30	98	2

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu (3), (4), (5) và (6). Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tương ứng với tạp chất A (D-phenylglycin) và pic của tạp chất B (acid 7-aminodesacetoxycephalosporanic) trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) ít nhất phải bằng 2,0. Độ phân giải giữa pic tương ứng với cephalexin và pic tương ứng với cefotaxim trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) ít nhất phải bằng 1,5.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic phụ tương ứng với pic thứ hai trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3) (tạp chất B) không được lớn hơn

diện tích pic thứ hai trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %). Bất kỳ pic phụ nào (trừ pic tương ứng với dimethylformamid và dimethylacetamid) có diện tích không được lớn hơn diện tích pic thứ nhất trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %). Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn ba lần diện tích pic thứ nhất trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (3,0 %). Bỏ qua những pic phụ có diện tích nhỏ hơn diện tích của pic thứ hai trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (0,05 %).

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16; phương pháp B).

Nước

Từ 4,0 % đến 8,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 0,136 % - nước (2 : 5 : 10 : 83).

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

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50,0 mg cephalixin monohydrat chuẩn trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 10 mg cefradin chuẩn trong 20 ml dung dịch đối chiếu và pha loãng thành 100 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector tử ngoại đặt tại bước sóng 254 nm.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic tương ứng với cephalixin và cefradin trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải ít nhất phải bằng 4,0.

Tính hàm lượng cephalixin trong chế phẩm dựa vào diện tích pic đáp ứng của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch uống.

NANG CEPHALEXIN

Capsulae Cephalaxini

Là nang cứng chứa cephalixin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cephalixin khan, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng nhãn bóng, không méo mó, bột thuốc bên trong đồng nhất.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel, không có chất kết dính, được chuẩn bị như sau: Đặt bản mỏng trong bình sắc ký có chứa hỗn hợp dung môi *n*-hexan và tetradecan (95 : 5) ngập khoảng 1 cm, để dung môi di chuyển theo chiều dài của bản mỏng, sau đó lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký và để dung môi bay hơi.

Dung môi khai triển: Dung dịch acid citric 0,1 M - dung dịch dinatri hydrophosphat 0,1 M - dung dịch ninhydrin trong acetone có nồng độ 1 g trong 15 ml (60 : 40 : 1,5).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 30 mg cephalixin, hòa tan trong 10 ml nước, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cephalixin chuẩn 0,3 % trong nước.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, đánh dấu mức dung môi và để bản mỏng khô ngoài không khí, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 phút và quan sát dưới ánh sáng thường.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và của dung dịch đối chiếu phải giống nhau về vị trí, màu sắc và kích thước.

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

Nước

Không được quá 10,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,3 g bột thuốc trong nang.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Môi trường: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc. Pha loãng một lượng dịch lọc với nước để được dung dịch có nồng độ cephalixin khoảng 20 μg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của

dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 262 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là nước. Tính toán hàm lượng cephalixin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, hòa tan trong mỗi nang dựa vào độ hấp thụ của dung dịch cephalixin chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng dung môi.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % lượng cephalixin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 1,0 g *natri pentansulfonat (TT)* trong 1015 ml hỗn hợp nước - acetonitril - methanol - triethylamin (850 : 100 : 50: 15), điều chỉnh tới pH $3,0 \pm 0,1$ bằng *acid phosphoric (TT)*.

Dung dịch chuẩn nội: Cân chính xác khoảng 300 mg *1-hydroxy benzotriazol* vào bình định mức 1000 ml, hòa tan trong 10 ml methanol (TT) và pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cephalixin chuẩn trong nước để thu được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ khoảng 1,0 mg/ml. Hút chính xác 10,0 ml dung dịch chuẩn gốc vào bình nón nút mài, thêm chính xác 15,0 ml dung dịch chuẩn nội và trộn đều.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg cephalixin vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml nước và lắc siêu âm 15 phút, pha loãng bằng nước vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Hút chính xác 10,0 ml dịch lọc vào bình nón nút mài, thêm chính xác 15,0 ml dung dịch chuẩn nội và trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm hoặc 10 μm)

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

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn: trên sắc ký đồ thu được, độ phân giải giữa pic chuẩn nội và pic cephalixin không nhỏ hơn 5; độ lệch chuẩn tương đối của tỷ số giữa diện tích pic cephalixin và diện tích pic chuẩn nội của các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng cephalixin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, từ tỷ số giữa diện tích pic cephalixin và diện tích pic chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ trong cephalixin chuẩn.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hoặc trong chai lọ nút kín.

Đề nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg; 500 mg.

THUỐC BỘT CEPHALEXIN

Pulveres Cephalaxini

Là thuốc bột chứa cephalixin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cephalixin khan, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột khô toi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu và các phép thử như mô tả ở mục Định tính trong chuyên luận "Nang cephalixin". Sử dụng bột thuốc thu được từ phép thử Độ đồng đều khối lượng.

Nước

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,5 g bột thuốc.

Độ mịn

Thuốc bột cephalixin phải đạt yêu cầu Bột mịn (Phụ lục 3.5).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn, dung dịch thử, điều kiện sắc ký, cách tiến hành thực hiện như mô tả ở mục Định lượng trong chuyên luận "Nang cephalixin", thay bột thuốc trong nang bằng bột thuốc thu được từ phép thử Độ đồng đều khối lượng.

Bảo quản

Trong gói giấy nhôm hoặc polyethylen kín.

Đề nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

125 mg; 250 mg; 500 mg.

VIÊN NÉN CEPHALEXIN

Tabellae Cephalaxini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa cephalixin.

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

Hàm lượng cephalixin khan, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng, hoặc có màu đồng nhất.

Định tính

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu và các phép thử như mô tả ở mục Định tính trong chuyên luận "Nang cephalixin". Sử dụng bột viên thay cho bột thuốc trong nang.

Nước

Không được quá 9,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,3 g bột viên.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu và tiến hành thử như đã mô tả trong chuyên luận "Nang cephalixin".

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn, dung dịch thử, điều kiện sắc ký, cách tiến hành thực hiện như mô tả ở mục Định lượng trong chuyên luận "Nang cephalixin", thay bột thuốc trong nang bằng bột viên sau khi cân 20 viên để xác định khối lượng trung bình và nghiền mịn.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hoặc trong chai lọ nút kín.

Đề nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

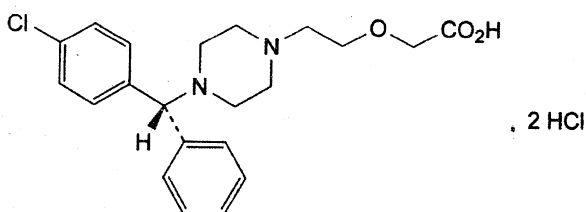
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg; 500 mg.

CETIRIZIN HYDROCLORID

Cetirizini hydrochloridum



và đồng phân đối quang

$C_{21}H_{27}Cl_3N_2O_3$

P.t.l: 461,8

Cetirizin dihydroclorid là acid (RS)-2-[2-[4-[(4-clorophenyl)phenylmethyl]piperazin-1-yl] ethoxy] acetic dihydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $C_{21}H_{27}Cl_3N_2O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, dễ tan trong nước; thực tế không tan trong aceton và trong dicloro-methan.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cetirizin dihydroclorid chuẩn.

B. Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung dịch acid. Lấy 10,0 ml dung dịch này pha loãng thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)*. Đo phổ hấp thụ từ ngoại từ 210 nm đến 350 nm (Phụ lục 4.1). Dung dịch có một cực đại hấp thụ ở 231 nm. Độ hấp thụ riêng tại cực đại này từ 359 đến 381.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac - methanol - dicloro-methan (1 : 10 : 90)

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg cetirizin dihydroclorid chuẩn trong nước và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg clorphenamin maleat chuẩn trong nước và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Lấy 1 ml dung dịch này, thêm 1 ml dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng mỗi dung dịch 5 µl. Triển khai sắc ký cho đến khi mép dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô dưới luồng không khí mát. Quan sát bản mỏng dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Một vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí và kích thước tương tự vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có hai vết tách rõ rệt.

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu VN₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Từ 1,2 đến 1,8 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch S để xác định.

Tạp chất liên quan

Kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3)

Pha động: Dung dịch acid sulfuric 10 % - nước - acetonitril (0,4 : 6,6 : 93).

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg cetirizin dihydroclorid chuẩn; 5,0 mg tạp chất chuẩn A của cetirizin (RS)-1-[(4-clorophenyl)phenyl methyl] piperazin trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch này, pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Lấy 5,0 ml dung dịch này, pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm), chất nhồi silica gel dùng cho sắc ký (5 μm).

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Detector: Quang phổ tử ngoại, đặt ở bước sóng 230 nm.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của các pic trên sắc ký đồ bằng khoảng 50 % thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic thứ nhất (cetirizin) và pic thứ hai (tạp chất A) ít nhất là 3 và các hệ số bất đối xứng tối đa là 2,0. Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Tiến hành sắc ký trong thời gian ít nhất bằng 3 lần thời gian lưu của pic cetirizin. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào, trừ pic chính cũng không được lớn hơn diện tích của pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %); tổng diện tích của tất cả các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %); không tính diện tích của các pic nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng

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

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 20,0 ml với nước. Lấy 12 ml dung dịch này đem thử theo phương pháp 1. Lấy 1 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Lấy 1,0 g chế phẩm đem thử.

Định lượng

Hòa tan khoảng 0,100 g chế phẩm trong 70 ml của hỗn hợp nước - aceton (30 : 70). Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD) đến điểm uốn thứ hai. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ

đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành chuẩn độ một mẫu trắng.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD) tương đương với 15,39 mg $C_{21}H_{27}Cl_3N_2O_3$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng receptor H_1 histamin.

VIÊN NÉN CETIRIZIN

Tabellae Cetirizini

Là viên nén bao phim chứa cetirizin hydroclorid.

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

Hàm lượng cetirizin hydroclorid, $C_{21}H_{27}Cl_3N_2O_3$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao bề mặt nhẵn, màu sắc đồng đều.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac - methanol - methylen clorid (1 : 10 : 90).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg cetirizin hydroclorid hòa tan trong 5 ml nước, lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg cetirizin hydroclorid chuẩn trong nước và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg clorpheniramin maleat chuẩn trong nước, pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Lấy 1 ml dung dịch này thêm 1 ml dung dịch đối chiếu (1), trộn đều.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 2/3 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 254 nm.

Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có hai vết tách rõ ràng.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và của dung dịch đối chiếu (1) phải giống nhau về vị trí, màu sắc và kích thước.

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 1000 ml nước.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động và điều kiện sắc ký thực hiện như trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cetirizin hydroclorid chuẩn với nước để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với dung dịch thử.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng cetirizin hydroclorid, $C_{21}H_{27}Cl_3N_2O_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 0,01 M (150 : 850)

Dung dịch thử: Cân 20 viên đã loại bỏ lớp bao, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 20 mg cetirizin hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml pha động, trộn đều và siêu âm 5 phút, thêm pha động đến định mức, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch cetirizin hydroclorid chuẩn 0,02 % trong pha động, lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cetirizin hydroclorid trong 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng cetirizin hydroclorid, $C_{21}H_{27}Cl_3N_2O_3$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{27}Cl_3N_2O_3$ của cetirizin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Kháng histamin. Đối kháng thụ thể H_1 .

Hàm lượng thường dùng

5 mg, 10 mg.

CETOSTEARYL ALCOL

Alcohol cetyllicus et stearyllicus

Cetostearyl alcol là hỗn hợp của các alcol rắn mạch thẳng, phải chứa không dưới 40,0 % stearyl alcol ($C_{18}H_{38}O$, p.t.l: 270,5) và không dưới 90,0 % tổng lượng cetyl alcol ($C_{16}H_{34}O$, p.t.l: 242,4) và stearyl alcol.

Tính chất

Hạt, vảy, khối giống sáp, màu trắng hay hơi vàng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong ether, tan trong ethanol 90 % và ether dầu hòa. Khi đun chảy hỗn hợp hòa với dầu béo, parafin lỏng và mỡ cừu nóng chảy.

Định tính

Trên sắc ký đồ thu được trong phần định lượng, hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với các pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 20 ml ethanol 96 % (TT) sôi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu N_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Nhiệt độ nóng chảy

49 °C đến 56 °C (Phụ lục 6.7).

Chỉ số acid

Không được quá 1,0 (Phụ lục 7.2).

Chỉ số hydroxyl

208 đến 228 (Phụ lục 7.4, phương pháp A).

Chỉ số iod

Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.5).

Dùng 2,0 g chế phẩm hòa tan trong 25 ml cloroform (TT).

Chỉ số xà phòng hóa

Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.7).

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong ethanol (TT) và pha loãng đến 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 60,0 mg cetyl alcol chuẩn trong ethanol (TT) và pha loãng đến 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 40,0 mg stearyl alcol chuẩn trong ethanol (TT) và pha loãng đến 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Trộn 1 ml dung dịch đối chiếu (1) với 1 ml dung dịch đối chiếu (2) và pha loãng đến 10,0 ml bằng ethanol (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (3 m $\times$ 4 mm) được nhồi diatomit dùng cho sắc ký khí (TT) đã tẩm 10 % (kl/kl) poly-(dimethyl)siloxan (TT).

Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký khí (TT)*.

Lưu lượng khí: 30 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ cột 200 °C, nhiệt độ buồng tiêm và detector 250 °C.

Thể tích tiêm: 2 µl.

Cách tiến hành: Tiêm riêng rẽ mỗi dung dịch. Điều chỉnh tốc độ dòng sao cho hệ số phân giải của 2 pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử không nhỏ hơn 1,25. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) có 2 pic chính với tỉ lệ tín hiệu – nhiễu ít nhất là 5. Xác định hàm lượng cetyl alcol và stearyl alcol từ sắc ký đồ của dung dịch thử bằng phương pháp chuẩn hóa. Định tính các pic bằng cách so sánh với sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2).

Bảo quản

Bao bì kín, tránh ánh sáng.

Công dụng

Tá dược.

CETYL ALCOL

Alcohol cetylicus

Cetyl alcol là hỗn hợp các alcol rắn, chủ yếu chứa hexadecanol ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{14}\text{-CH}_2\text{OH}$; p.t.l: 242,4).

Tính chất

Khối, bột, vảy hay hạt màu trắng, nhờn. Thực tế không tan trong nước, hơi tan đến dễ tan trong ethanol 96 %, dễ tan trong ether. Khi đun chảy, hỗn hợp hòa với dầu thực vật, mỡ động vật, parafin lỏng và mỡ cừu nóng chảy.

Định tính

A. Nhiệt độ nóng chảy

46 °C đến 52 °C (Phụ lục 6.7).

B. Chỉ số hydroxyl

218 đến 238 (Phụ lục 7.4).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* sôi, để nguội và pha loãng đến 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu N_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chỉ số acid

Không được quá 1,0 (Phụ lục 7.2).

Chỉ số iod

Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.5).

Dùng 2,0 g chế phẩm hòa tan trong 25 ml *cloroform (TT)*.

Chỉ số xà phòng hóa

Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.7).

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Bảo quản

Bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Tá dược.

CHYMOTRYPSIN

Chymotrypsinum

Chymotrypsin là men thủy phân protein được kết tinh từ dịch chiết tuyến tụy bò, *Bos taurus* Linné (Fam *Bovidae*). Chế phẩm phải chứa không ít hơn 1000 đơn vị chymotrypsin trong mỗi mg, tính theo chế phẩm đã làm khô và phải chứa từ 90,0 % đến 110,0 % so với hoạt lực ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột kết tinh hoặc bột vô định hình màu trắng. Hơi tan trong nước. Dạng bột vô định hình dễ hút ẩm.

Định tính

A. Lấy khoảng 10 mg chế phẩm, hòa tan trong 10 ml nước đun sôi để nguội. Lấy 0,05 ml dung dịch thu được cho vào khay sứ trắng, thêm 0,2 ml *dung dịch cơ chất*. Màu đỏ tím xuất hiện trong vòng 3 phút.

Cách pha dung dịch cơ chất:

Dung dịch đỏ methyl - xanh methylen: Trộn đồng thể tích *dung dịch đỏ methyl 0,1 % trong ethanol 96 %* và *dung dịch xanh methylen 0,05 % trong ethanol 96 %*.

Dung dịch cơ chất: Cân chính xác 237,0 mg N-acetyl-L-tyrosin ethyl ester cho vào bình định mức 100 ml, thêm 2 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc đến khi tan. Thêm 20 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (chuẩn bị trong phần định lượng), thêm 1 ml dung dịch đỏ methyl - xanh methylen rồi pha loãng với nước vừa đủ đến vạch.

B. Lấy khoảng 30 mg chế phẩm hòa tan trong *dung dịch acid hydrocloric 0,001 N (TT)*, pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 220 đến 320 nm phải có cực đại ở bước sóng khoảng 281 nm và cực tiểu ở bước sóng khoảng 250 nm.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,100 g; 60 °C; trong chân không; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 2,5 % (Phụ lục 9.9; phương pháp 2).

Dùng 0,100 g chế phẩm.

Trypsin

Không được quá 1 % (kl/kl).

Dung dịch thử: Hòa tan 100 mg chế phẩm trong 10,0 ml nước.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch Trypsin trong nước có nồng độ 0,01 %.

Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan pH 8,1 (0,08 M): Hòa tan 294 mg *calci clorid* (TT) trong 40 ml *dung dịch tris(hydroxymethyl)aminomethan 0,20 M*, điều chỉnh pH đến 8,1 bằng *dung dịch acid hydrochloric 1 N* (TT) và pha loãng thành 100 ml với nước.

Dung dịch cơ chất: Cân 98,5 mg *p-toluensulfonyl-L-arginin methyl ester hydroclorid* (TT) (loại dùng để định lượng trypsin), cho vào bình định mức dung tích 25 ml. Thêm 5 ml *dung dịch đệm tris(hydroxy-methyl)-aminomethan pH 8,1* và lắc cho đến khi hòa tan cơ chất. Thêm 0,25 ml *dung dịch đỏ methyl - xanh methylen* (pha ở phần định tính) và thêm nước vừa đủ đến vạch.

Cách tiến hành:

Dùng micro pipet lấy 50 µl *dung dịch thử* và *dung dịch đối chiếu* cho vào hai khay sứ trắng riêng biệt, thêm 0,2 ml *dung dịch cơ chất* vào mỗi *dung dịch*. Trong vòng 3 phút, khay sứ chứa *dung dịch thử* không được có màu đỏ tía tạo thành, khay sứ chứa *dung dịch đối chiếu* cho màu đỏ tía.

Định lượng

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (0,067 M): Hòa tan 4,54 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong 500 ml nước (*dung dịch A*). Hòa tan 4,73 g *dinatri hydrophosphat khan* (TT) trong 500 ml nước (*dung dịch B*). Trộn 38,9 ml *dung dịch A* với 61,1 ml *dung dịch B*. Điều chỉnh tới pH 7,0 bằng cách thêm từng giọt *dung dịch B* nếu cần.

Dung dịch cơ chất: Hòa tan 23,7 mg *N-acetyl-L-tyrosin ethyl ester* (TT) (loại thích hợp để dùng định lượng chymotrypsin) trong khoảng 50 ml *dung dịch đệm phosphat pH 7,0* bằng cách làm ấm. Để nguội, thêm *dung dịch đệm phosphat pH 7,0* vừa đủ 100 ml.

Lưu ý: Có thể bảo quản đông lạnh *dung dịch cơ chất* và được sử dụng sau khi rã đông, nhưng phải làm đông lạnh ngay sau khi pha.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm thích hợp (W) và hòa tan trong *dung dịch acid hydrochloric 0,0012 N* để thu được *dung dịch* có nồng độ từ 12 - 16 đơn vị chymotrypsin trong 1 ml. Dùng *dung dịch* có nồng độ thấp hơn hoặc cao hơn nếu cần sao cho trong quá trình định lượng sự thay đổi độ hấp thụ trong khoảng từ 0,008 đến 0,012 trong mỗi 30 giây.

Cách tiến hành:

Định lượng bằng máy quang phổ tử ngoại thích hợp, có hệ thống điều nhiệt để duy trì nhiệt độ buồng chứa cốc đo ở $25 \pm 0,1$ °C. Xác định nhiệt độ trong cốc đo trước và sau khi đo độ hấp thụ để đảm bảo nhiệt độ không thay đổi quá 0,5 °C.

Hút chính xác 0,2 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,0012 N* và 3,0 ml *dung dịch cơ chất* vào cốc đo dày 1 cm. Đặt cốc đo vào máy quang phổ tử ngoại và điều chỉnh thiết bị để có độ hấp thụ là 0,200 ở 237 nm.

Hút chính xác 0,2 ml *dung dịch thử* cho vào cốc đo dày 1 cm, thêm chính xác 3,0 ml *dung dịch cơ chất*, trộn đều. Đặt cốc đo vào máy quang phổ tử ngoại và đo ngay độ hấp thụ.

Đo độ hấp thụ sau mỗi 30 giây trong ít nhất 5 phút. Lặp lại thí nghiệm cùng độ pha loãng ít nhất một lần. Giá trị tuyệt đối của độ hấp thụ không quan trọng bằng tốc độ suy giảm hằng định của độ hấp thụ. Nếu tốc độ suy giảm của độ hấp thụ không đạt được hằng định trong khoảng thời gian ít nhất là 3 phút, phải làm lại thí nghiệm, nếu cần sử dụng *dung dịch thử* có nồng độ thích hợp.

Vẽ đường biểu diễn độ hấp thụ theo thời gian, lấy giá trị độ hấp thụ làm tung độ và thời gian làm hoành độ. Chọn đoạn tuyến tính trong vòng 3 phút để xác định hoạt lực của mẫu thử.

Một đơn vị chymotrypsin là hoạt tính làm thay đổi độ hấp thụ là 0,0075 trong mỗi phút với các điều kiện quy định của phương pháp định lượng này.

Tính hoạt lực (đơn vị) chymotrypsin có trong mỗi mg chế phẩm theo công thức:

$$\frac{(A_1 - A_2) \times D}{T \times 0,0075 \times W \times 0,2}$$

Trong đó:

A_1 là độ hấp thụ ở thời điểm đầu trong khoảng biến thiên độ hấp thụ tuyến tính;

A_2 là độ hấp thụ ở thời điểm cuối trong khoảng biến thiên độ hấp thụ tuyến tính;

T là khoảng thời gian giữa lần đọc đầu và lần đọc cuối (phút);

D là độ pha loãng của *dung dịch thử*;

W là khối lượng mẫu thử (mg).

Giới hạn nhiễm khuẩn

Không được có *Pseudomonas aeruginosa*, các chủng *Salmonella* và *Staphylococcus aureus* (Phụ lục 13.6).

Bảo quản

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

Loại thuốc

Thuốc men thủy phân protein.

VIÊN NÉN CHYMOTRYPSIN

Tabellae Chymotrypsini

Là viên nén chứa chymotrypsin.

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

Hoạt lực chymotrypsin, từ 90,0 % đến 120,0 % so với hoạt lực ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 4,2 mg chymotrypsin, hòa tan trong 4 ml nước đun sôi để nguội, lọc. Lấy 0,05 ml dịch lọc cho vào khay sứ trắng, thêm 0,2 ml *dung dịch cơ chất*. Màu đỏ tím xuất hiện trong vòng 3 phút.

Cách pha dung dịch cơ chất:

Dung dịch đỏ methyl - xanh methylen: Trộn đồng lượng *dung dịch đỏ methyl 0,1 % trong ethanol (TT)* và *dung dịch xanh methylen 0,05 % trong ethanol (TT)*.

Dung dịch cơ chất: Cân chính xác 237,0 mg N-acetyl-L-tyrosin ethyl ester cho vào bình định mức 100 ml, thêm 2 ml *ethanol (TT)*, lắc đến khi tan. Thêm 20 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (chuẩn bị trong phần định lượng), thêm 10 ml *dung dịch đỏ methyl - xanh methylen* rồi pha loãng với nước vừa đủ.

B. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 30 mg chymotrypsin hòa tan trong *dung dịch acid hydrochloric 0,001 M*, pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi, lọc. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được trong khoảng bước sóng từ 220 đến 320 nm phải có cực đại ở bước sóng 281 nm và cực tiểu ở 250 nm.

Định lượng

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0: Hòa tan 4,54 g kali dihydrophosphat (TT) trong 500 ml nước (dung dịch A). Hòa tan 4,73 g dinatri hydrophosphat khan (TT) trong 500 ml nước (dung dịch B). Trộn 38,9 ml dung dịch A với 61,1 ml dung dịch B. Điều chỉnh tới pH 7,0 bằng cách thêm từng giọt dung dịch B nếu cần.

Dung dịch cơ chất: Hòa tan 23,7 mg N-acetyl-L-tyrosin ethyl ester (loại thích hợp để dùng định lượng chymotrypsin) trong khoảng 50 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 bằng cách làm ấm. Để nguội, thêm dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ 100 ml. Lưu ý: Có thể bảo quản đông lạnh dung dịch cơ chất và được sử dụng sau khi rã đông, nhưng phải làm đông lạnh ngay sau khi pha.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên thích hợp và hòa tan trong *dung dịch acid hydrochloric 0,0012 M* để thu được dung dịch có nồng độ từ 12 đến 16 đơn vị chymotrypsin USP trong 1 ml. Dùng dung dịch có nồng độ thấp hơn hoặc cao hơn (nếu cần) để trong quá trình định lượng sự thay đổi độ hấp thụ trong khoảng từ 0,008 đến 0,012 trong mỗi 30 giây.

Cách tiến hành

Lưu ý: Xác định sự thích hợp của cơ chất và kiểm tra sự điều chỉnh máy quang phổ tử ngoại bằng cách tiến hành sử dụng chymotrypsin chuẩn thay thế mẫu thử.

Định lượng bằng máy quang phổ tử ngoại thích hợp, có hệ thống điều nhiệt để duy trì nhiệt độ buồng chứa

cốc đo ở $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Xác định nhiệt độ trong cốc đo trước và sau khi đo độ hấp thụ để đảm bảo nhiệt độ không thay đổi quá $0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Hút chính xác 0,2 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,0012 M* và 3,0 ml *dung dịch cơ chất* vào cốc đo dày 1 cm. Đặt cốc đo vào máy quang phổ tử ngoại và điều chỉnh thiết bị để có độ hấp thụ là 0,200 ở 237 nm.

Hút chính xác 0,2 ml dung dịch thử cho vào cốc đo dày 1 cm, thêm chính xác 3,0 ml *dung dịch cơ chất*. Đặt cốc đo vào máy quang phổ tử ngoại (Chú ý: Thực hiện thêm mẫu vào cốc đo đúng theo thứ tự này, và bắt đầu ghi thời gian phản ứng ngay sau khi thêm dung dịch cơ chất).

Đo độ hấp thụ sau mỗi 30 giây trong ít nhất 5 phút. Lập lại thí nghiệm cùng độ pha loãng ít nhất một lần. Giá trị tuyệt đối của độ hấp thụ ít quan trọng bằng tốc độ suy giảm không đổi của độ hấp thụ. Nếu tốc độ suy giảm không đổi của độ hấp thụ này không đạt được trong khoảng thời gian ít hơn 3 phút, phải làm lại thí nghiệm, nếu cần, sử dụng dung dịch thử có nồng độ thích hợp. Khi xác định lại lần thứ hai các dung dịch thử có cùng độ pha loãng phải có tốc độ suy giảm của độ hấp thụ như lần đầu.

Để xác định sự thay đổi độ hấp thụ trung bình trong mỗi phút, chỉ sử dụng các giá trị nằm trên đường biểu diễn sự suy giảm độ hấp thụ theo thời gian, đoạn có tốc độ suy giảm độ hấp thụ không đổi trong 3 phút.

Một đơn vị chymotrypsin USP là hoạt tính làm thay đổi độ hấp thụ là 0,0075 trong mỗi phút với các điều kiện quy định của phương pháp định lượng này.

Tính hàm lượng (%) chymotrypsin trong viên so với hàm lượng ghi trên nhãn theo công thức:

$$\frac{(A_1 - A_2) \times D \times M \times 100}{T \times 0,0075 \times W \times 0,2 \times 4200}$$

Trong đó:

A_1 là độ hấp thụ ở thời điểm đầu trong khoảng biến thiên độ hấp thụ tuyến tính;

A_2 là độ hấp thụ ở thời điểm cuối trong khoảng biến thiên độ hấp thụ tuyến tính;

T là khoảng thời gian giữa lần đọc đầu và lần đọc cuối (phút);

D là độ pha loãng của dung dịch thử;

W là khối lượng bột viên mẫu thử (mg);

M là khối lượng trung bình viên (mg).

Bảo quản

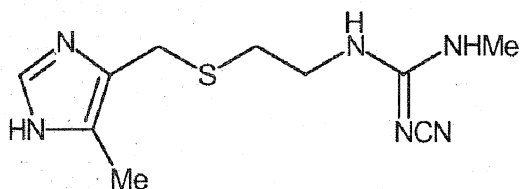
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Men phân giải protein.

Hàm lượng thường dùng

4,2 mg (tương ứng với 21 microkatal hay 4200 đơn vị chymotrypsin USP).

CIMETIDIN**Cimetidinum**C₁₀H₁₆N₆S

P.t.l: 252,3

Cimetidin là 2-cyan -1-methyl-3-[2-(5-methylimidazol-4-yl-methylthio)ethyl]-guanidin, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % C₁₀H₁₆N₆S, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng. Tan trong ethanol 96 %, khó tan trong nước và thực tế không tan trong methylen clorid. Tan trong các acid vô cơ loãng. Có dạng thù hình.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cimetidin chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm có sự khác nhau so với phổ của cimetidin chuẩn thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chuẩn trong 2-propanol (TT), bốc hơi đến khô và ghi lại phổ.

B. Điểm chảy (Phụ lục 6.7) từ 139 °C đến 144 °C. Nếu cần thiết, hòa tan chế phẩm trong 2-propanol (TT), bốc hơi đến khô và xác định điểm chảy lại.

C. Trên sắc ký đồ thu được ở mục thử "Tập chất liên quan", vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4).

D. Hòa tan 1 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 ml ethanol (TT) và 5 ml dung dịch acid citric 2 % trong anhydrid acetic vừa mới pha. Đun nóng trong cách thủy khoảng từ 10 đến 15 phút sẽ xuất hiện màu tím đỏ.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 3,0 g chế phẩm trong 12 ml dung dịch acid hydrocloric 1 M và pha loãng thành 20 ml bằng nước không có carbon dioxyd (TT). Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V₅ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tập chất liên quan

Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển (A): Amoniac đậm đặc - methanol - ethyl acetat (15 : 20 : 65).

Dung môi khai triển (B): Amoniac đậm đặc - methanol - ethyl acetat (8 : 8 : 84).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng methanol (TT). Pha loãng 20 ml dung dịch này thành 100 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10 mg cimetidin chuẩn trong 2 ml methanol (TT).

Cách tiến hành:

A. Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Để bản mỏng trong bình sắc ký đã được bão hòa hơi dung môi khai triển (A) trong 15 phút, triển khai ngay bản mỏng trong dung môi đó cho đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và làm khô bằng luồng không khí lạnh. Đặt bản mỏng trong bình sắc ký đã bão hòa hơi iod cho tới khi các vết xuất hiện rõ nhất và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được có màu đậm hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %). Chỉ được phép có hai vết có màu đậm hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho một vết nhìn thấy rõ.

B. Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai bản mỏng trong dung môi khai triển (B) đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và làm khô bằng luồng không khí lạnh. Đặt bản mỏng trong bình sắc ký đã bão hòa hơi iod cho tới khi các vết xuất hiện rõ nhất và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được có màu đậm hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %) và chỉ được có hai vết có màu đậm hơn vết của dung dịch đối chiếu (2) (0,1%). Phép thử có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho một vết nhìn thấy rõ.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 60 ml *acid acetic khan* (TT) và chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ), xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 25,23 mg $C_{10}H_{16}N_6S$.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng thụ thể H_2 histamin.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc tiêm, siro, hỗn dịch uống.

VIÊN NÉN CIMETIDIN**Tabellae Cimetidini**

Là viên nén hoặc viên bao phim chứa cimetidin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cimetidin, $C_{10}H_{16}N_6S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng hoặc có màu đồng nhất, không mùi, vị hơi đắng.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên có chứa khoảng 0,1 g cimetidin với 10 ml *methanol* (TT) trong khoảng 10 phút, lọc, bay hơi dịch lọc tới khô. Hòa tan cân trong 5 ml *cloroform* (TT) và bay hơi tới khô. Sấy khô cân ở 60 °C trong chân không. Phở hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cân thu được phải phù hợp với phở chuẩn của cimetidin.

B. Trong phép thử Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải tương đương với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (4).

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển A: Amoniac - *methanol* - *ethyl acetat* (15 : 20 : 65).

Dung môi khai triển B: Amoniac - *methanol* - *ethyl acetat* (8 : 8 : 84).

Chuẩn bị các dung dịch sau:

Dung dịch thử (1): Lấy một lượng bột viên tương ứng 1 g cimetidin thêm 20 ml *methanol* (TT), lắc siêu âm 2 phút, tiếp tục lắc 3 phút và lọc.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử (1) thành 10 thể tích bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử (2) thành 20 thể tích bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử (1) thành 100 thể tích bằng *methanol* (TT) và pha loãng 20 thể tích dung dịch thu được thành 100 thể tích bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5 thể tích dung dịch đối chiếu (2) thành 10 thể tích bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (4): Dung dịch cimetidin chuẩn 0,5 % trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành:

A. Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 μ l mỗi dung dịch trên. Để yên bản mỏng 15 phút trong bình bão hòa hơi của dung môi khai triển A, sau đó triển khai sắc ký với hệ dung môi này. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Đặt bản mỏng vào bình có hơi iod cho tới khi xuất hiện vết và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại (254 nm).

B. Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 μ l mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký với dung môi khai triển B. Lấy bản mỏng ra để khô tự nhiên. Sau đó đặt bản mỏng vào bình có hơi iod và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 254 nm.

Đối với cả 2 cách: Bắt kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %) và không có quá hai vết như vậy đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 % cho mỗi vết). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho các vết nhìn thấy rõ.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,01 M* (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 15 phút đối với viên nén và 45 phút đối với viên bao.

Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan và lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ khoảng 5 μ g đến 10 μ g trong 1 ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 218 nm với mẫu trắng là *dung dịch acid hydrochloric 0,01 M* (TT).

Tính hàm lượng cimetidin, $C_{10}H_{16}N_6S$, đã hòa tan theo A (1 %, 1 cm), lấy 774 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng (cực đại) 218 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % lượng cimetidin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong thời gian đã quy định.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương

ứng 100 mg cimetidin vào bình định mức 500 ml, thêm 300 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*, lắc 20 phút, thêm *dung dịch acid sulfuric 0,05 M* đến định mức, lọc. Pha loãng 5 ml dịch lọc trên thành 100 ml với *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*, lắc đều. Pha *dung dịch cimetidin chuẩn 0,001 % trong dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của *dung dịch thử* và *dung dịch chuẩn* ở hai bước sóng cực đại 218 nm và 260 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*.

Tính hàm lượng cimetidin, $C_{10}H_{16}N_6S$, dựa theo tỷ số của hiệu số độ hấp thụ ở 2 bước sóng cực đại của *dung dịch thử* so với *dung dịch chuẩn* và hàm lượng $C_{10}H_{16}N_6S$ của cimetidin chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

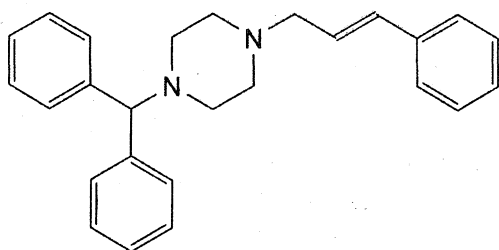
Kháng thụ thể histamin H_2 .

Hàm lượng thường dùng

200 mg, 300 mg, 400 mg và 800 mg.

CINARIZIN

Cinnarizinum



$C_{26}H_{28}N_2$

P.t.l: 368,5

Cinarizin là (E)-1-(diphenylmethyl)-4-(3-phenylprop-2-en-1-yl)piperazin, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{26}H_{28}N_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong methylen clorid, tan trong acetone, khó tan trong ethanol 96 % và methanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: A, C, D.

A. Xác định điểm nóng chảy (Phụ lục 6.7): từ 118 °C đến 122 °C.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cinarizin chuẩn.

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

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel có chỉ thị huỳnh quang F_{254} .

Dung môi triển khai: *Dung dịch natri clorid 1 M - methanol - acetone* (20 : 30 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)*, và pha loãng thành 20 ml với cùng *dung môi*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg cinarizin chuẩn trong *methanol (TT)*, và pha loãng thành 20 ml với cùng *dung môi*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg cinarizin chuẩn và 10 mg flunarizin hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng *dung dịch* tới 20 ml với cùng *dung môi*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi *dung dịch chuẩn* và *thử*. Triển khai sắc ký trong bình không bão hòa *dung môi* cho đến khi *dung môi* đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng để khô tự nhiên, quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của *dung dịch thử* phải tương ứng với vị trí và kích thước của vết thu được từ *dung dịch đối chiếu (1)*. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được của *dung dịch đối chiếu (2)* có 2 vết tách rõ ràng.

D. Hòa tan 0,2 g *acid citric khan (TT)* trong 10 ml *anhydrid acetic (TT)* bằng cách đun trong cách thủy ở 80 °C và tiếp tục để thêm 10 phút. Thêm khoảng 20 mg chế phẩm, màu đỏ tím sẽ xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 20 ml *methylen clorid (TT)*. *Dung dịch phải trong* (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 0,5 g chế phẩm thêm 15 ml *nước*, đun sôi trong 2 phút. Làm lạnh và lọc. Pha loãng dịch lọc tới 20 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)* thu được *dung dịch S*. Lấy 10 ml *dung dịch S* thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* và 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)*, *dung dịch* có màu hồng. Lấy 10 ml *dung dịch S* thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,25 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)*, *dung dịch* có màu đỏ.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: *Dung dịch amoni acetat 1 % (TT)*.

Pha động B: *Dung dịch acid acetic 0,2 % trong acetonitril (tt/tt)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng *dung môi*.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml *dung dịch thử* thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 5,0 ml *dung dịch* này thành 20,0 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 12,5 mg cinarizin chuẩn và 15,0 mg flunarizin hydroclorid chuẩn trong 100,0 ml

methanol (TT). Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml bằng *methanol (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,0 mm), nhồi pha tĩnh base-deactivated octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (3 µm).

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 230 nm.

Thể tích tiêm: 10 µl

Cách tiến hành: Tiến hành rửa giải theo chương trình trong bảng sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 20	75 → 10	25 → 90	Gradient tuyến tính
20 - 25	10	90	Đẳng dòng
25 - 30	75	25	Chuyển dung môi về thành phần ban đầu
30 - 0	75	25	Bắt đầu lại chương trình gradient

(Cân bằng cột ít nhất 30 phút với tỷ lệ dung môi 75 A: 25 B).

Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính khi tiêm dung dịch đối chiếu ít nhất khoảng 50 % của thang đo. Nếu cần, có thể điều chỉnh nồng độ dung dịch acid acetic trong pha động B để thu được đường nền phẳng.

Tiêm dung dịch phân giải trong điều kiện sắc ký như đã nêu, thời gian lưu của cinarizin khoảng 11 phút, thời gian lưu của flunarizin khoảng 11,5 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa các pic của cinarizin và flunarizin ít nhất bằng 5. Nếu cần, có thể điều chỉnh chương trình thời gian của rửa giải gradient.

Tiêm mẫu trắng là *methanol (TT)*, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử: bất cứ diện tích pic phụ nào, trừ pic chính, không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,25 %). Tổng diện tích tất cả các pic phụ của dung dịch thử, trừ pic chính, không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Bỏ qua các pic của mẫu trắng và bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

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

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 15 thể tích nước và 85 thể tích *aceton (TT)*. Thêm *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)* đến khi tan hoàn toàn, pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp nước - *aceton*

trên. Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 2. Dùng 10 ml dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu thu được bằng cách pha loãng *dung dịch chỉ mẫu 100 phần triệu (TT)* với hỗn hợp dung môi trên để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g ; áp suất giảm; 60 °C; 4 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6)

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 50 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích *acid acetic khan (TT)* và 7 thể tích *ethyl methyl keton (TT)*. Chuẩn độ với *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)*, dùng 0,2 ml *dung dịch naphtholbenzein (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)* tương ứng với 18,43 mg C₂₆H₂₈N₂.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng histamin thụ thể H₁.

VIÊN NÉN CINARIZIN

Tabellae Cinnarizini

Là viên nén có chứa cinarizin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cinarizin, C₂₆H₂₈N₂, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,25 g cinarizin trong 25 ml *ethanol (TT)*, đun nóng nhẹ để hòa tan. Lọc, làm bay hơi dịch lọc tới cạn, lấy cặn làm các phản ứng sau đây:

A. Lấy khoảng 20 mg cặn thêm 5 ml *ethanol (TT)*, đun nóng để hòa tan. Thêm 2 giọt *dung dịch kali hydroxyd 6,5 %*. Trộn kỹ. Thêm 2 đến 3 giọt *dung dịch kali permanganat 0,02 M*, màu tím lập tức bị biến mất.

B. Lấy khoảng 10 mg cặn, thêm vài giọt *dung dịch formaldehyd 2 %* trong *acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu đỏ.

C. Lấy khoảng 50 mg cần cho vào một ống nghiệm. Đậy lên miệng ống nghiệm một miếng giấy lọc đã được thấm ướt trước với *dung dịch acid trichloroacetic 2 %*, sau đó thêm 1 giọt *dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd 5 % trong acid hydrochloric* lên trên miếng giấy lọc đó. Đốt nóng ống nghiệm đến khi thu được một khối màu đen. Khói bay lên nhuộm màu giấy lọc thành tím.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4).

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

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

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần *dung dịch* môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml *dịch lọc* đầu. Pha loãng 5 ml *dịch lọc* thành 20 ml với môi trường hòa tan. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của *dung dịch* thu được ở bước sóng 253 nm. Mẫu trắng là môi trường hòa tan.

Tính hàm lượng cinarizin, $C_{26}H_{28}N_2$, được hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 575 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cinarizin ở bước sóng 253.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % lượng cinarizin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg cinarizin cho vào bình định mức 200 ml, thêm 150 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)*. Lắc kỹ để hòa tan. Thêm *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc. Lấy chính xác 5,0 ml *dịch lọc* cho vào bình định mức 100 ml, pha loãng với *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều.

Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của *dung dịch* thu được ở bước sóng 253 nm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)*.

Tính hàm lượng của cinarizin, $C_{26}H_{28}N_2$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 575 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cinarizin ở bước sóng 253 nm.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng histamin (H_1).

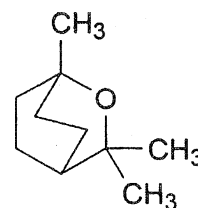
Hàm lượng thường dùng

15 mg, 25 mg.

CINEOL

Cineolum

Eucalyptol



$C_{10}H_{18}O$

P.t.l: 154,3

Cineol là 1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octan.

Tính chất

Chất lỏng trong, không màu, có mùi đặc trưng. Thực tế không tan trong nước, trộn lẫn được với ethanol 96 % và dicloromethan.

Định tính

A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử chỉ số khúc xạ.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - toluen (1 : 9).

Dung dịch thử: Lấy 1 ml *dung dịch S*, thêm ethanol 96 % (TT) vừa đủ 25 ml.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 80 mg cineol chuẩn trong ethanol 96 % (TT) và thêm ethanol 96 % (TT) vừa đủ 10 ml.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi *dung dịch* trên. Triển khai sắc ký đến khi *dung môi* đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Phun *dung dịch anisaldehyd (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 5 phút. *Dung dịch thử* phải cho vết chính có vị trí, màu sắc và kích thước tương ứng với vết chính của *dung dịch đối chiếu*.

C. Lấy 0,1 ml chế phẩm, thêm 4 ml acid sulfuric đậm đặc (TT) sẽ có màu đỏ cam. Thêm 0,2 ml *dung dịch formaldehyd (TT)*, màu chuyển sang nâu sẫm.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong ethanol 96 % (TT) và thêm ethanol 96 % (TT) vừa đủ 10,0 ml.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Góc quay cực

Góc quay cực của *dung dịch S* phải nằm trong khoảng $-0,10^\circ$ đến $+0,10^\circ$ (Phụ lục 6.4).

Chỉ số khúc xạ

1,456 đến 1,460 (Phụ lục 6.1).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 1,0 g camphor (TT) trong heptan (TT) và pha loãng với cùng dung môi thành 200 ml.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong heptan (TT) và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong heptan (TT), thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 25,0 ml bằng heptan (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Lấy 2,0 ml dung dịch thử (1), thêm vào 20,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 100,0 ml bằng heptan (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50 mg 1,4-cineol (TT) và 50 mg chế phẩm trong heptan (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột mao quản (50 m × 0,25 mm), pha tĩnh macrogol 20 000 (phim dày 0,25 μm).

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký.

Tốc độ dòng: 45 cm/s.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 70.

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ cột: Duy trì ở 50 °C trong 10 phút, nâng nhiệt độ với tốc độ 2 °C/min lên đến 100 °C, sau đó nâng tiếp nhiệt độ với tốc độ 10 °C/min lên đến 200 °C và duy trì trong 10 phút.

Nhiệt độ buồng tiêm: 220 °C.

Nhiệt độ detector: 250 °C.

Thể tích tiêm: 1 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm lần lượt các dung dịch trên. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic của 1,4-cineol và pic của cineol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) ít nhất là 10. Tính tỷ lệ R giữa diện tích của pic cineol và diện tích của pic tương ứng với chất chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Trên sắc đồ của dung dịch thử (2), tính tỷ lệ giữa tổng diện tích của tất cả các pic, trừ pic chính và pic của chất chuẩn nội, và diện tích của pic tương ứng với chất chuẩn nội. Tỷ lệ này không được lớn hơn R (2 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,025 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Cẩn sau khi bay hơi

Không được quá 0,1 %.

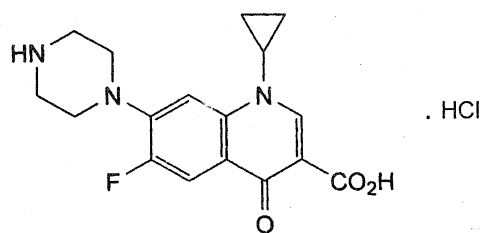
Cân 2,0 g chế phẩm, thêm 5 ml nước. Bốc hơi trên cách thủy tới khô và sấy cần ở 100 °C đến 105 °C trong 1 giờ. Lượng cần còn lại không được quá 2 mg.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

CIPROFLOXACIN HYDROCLORID

Ciprofloxacin hydrochloridum



$C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl$

P.t.l: 367,8

Ciprofloxacin hydroclorid là acid 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic hydroclorid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng nhạt, hút ẩm nhẹ. Tan trong nước, khó tan trong methanol, rất khó tan trong ethanol, thực tế không tan trong acetone, ethyl acetat và methylen clorid.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ciprofloxacin hydroclorid chuẩn.

B. Chế phẩm cho phản ứng định tính (B) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 20 ml với nước không có carbon dioxyl (TT). Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VL₅ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S phải từ 3,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Acid fluoroquinolonic

Không được quá 0,2 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Acetonitril - amoniac - methanol - methylen clorid (10 : 20 : 40 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg acid fluoroquinolonic chuẩn trong hỗn hợp gồm 0,1 ml amoniac (TT) và 90 ml nước, thêm nước vừa đủ 100 ml. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng nước.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch. Trong một bình sắc ký khác, đặt ở đáy bình một chiếc cốc miệng rộng, trong cốc có chứa 50 ml amoniac (TT). Đặt bản mỏng vào bình, đậy kín bình và để bản mỏng tiếp xúc với hơi amoniac trong 15 phút. Nhấc bản mỏng ra và triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử, vết tương ứng với acid fluoroquinolonic không được đậm màu hơn vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp gồm 13 thể tích acetonitril (TT) và 87 thể tích dung dịch acid phosphoric 0,245 % đã được điều chỉnh pH đến 3,0 bằng triethylamin (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg ciprofloxacin hydroclorid dùng để định tính pic trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tinh C (5 µm).

Nhiệt độ cột 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 278 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Thời gian lưu tương đối của các tạp chất so với ciprofloxacin (thời gian lưu khoảng 9 phút) là: tạp chất E khoảng 0,4; tạp chất F khoảng 0,5; tạp chất B khoảng 0,6; tạp chất C khoảng 0,7 và tạp chất D khoảng 1,2. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic của tạp chất B và tạp chất C không được nhỏ hơn 1,3.

Dùng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và thông số thời gian lưu tương đối so với ciprofloxacin để xác định các pic đáp ứng của các tạp chất.

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng các tạp chất, nhân diện tích pic đáp ứng của các tạp chất với các hệ số sau, tạp chất B bằng 0,7; tạp chất C bằng 0,6; tạp chất D bằng 1,4; tạp chất E bằng 6,7.

Tiến hành chạy sắc ký với thời gian rửa giải gấp hai lần thời gian lưu của ciprofloxacin.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, các pic tương ứng với các tạp chất B, C, D và E không được có diện tích (đã hiệu chỉnh) lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Bất kỳ tạp

chất nào khác không được có diện tích pic lớn hơn một nửa diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,25 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid 7-cloro-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic (acid fluoroquinolonic).

Tạp chất B: Acid 1-cyclopropyl-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic (hợp chất desfluoro).

Tạp chất C: Acid 7-[(2-aminoethyl)amino]-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic (hợp chất ethylendiamin).

Tạp chất D: Acid 7-cloro-1-cyclopropyl-4-oxo-6-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic.

Tạp chất E: 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(piperazin-1-yl)quinolin-4(1H)-on.

Tạp chất F: Acid 1-cyclopropyl-6-hydroxy-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic.

Kim loại nặng

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

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 30 ml với cùng dung môi, lọc. Lấy dịch lọc thử theo phương pháp 5. Dùng 5 ml dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 6,7 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm trong chén platin.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Điều kiện sắc ký: Giống như phần thử Tạp chất liên quan. Thể tích tiêm 10 µl.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25,0 mg ciprofloxacin hydroclorid chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Tính hàm lượng $C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl$ dựa vào diện tích pic đáp ứng.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

Chế phẩm

Viên nén.

THUỐC NHỎ MẮT CIPROFLOXACIN***Collyrium Ciprofloxacin***

Thuốc nhỏ mắt ciprofloxacin là dung dịch vô khuẩn của ciprofloxacin hydroclorid trong nước, có thể có thêm các tá dược thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

A. Sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Methanol - dicloromethan - amoniac - acetonitril (40 : 40 : 20 : 10).

Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm thử trong nước để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 3 mg ciprofloxacin hydroclorid/ml.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ciprofloxacin hydroclorid chuẩn trong nước có nồng độ 3 mg/ml.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 μ l mỗi dung dịch trên. Đặt bản mỏng trong bình chứa amoniac (TT) trong 15 phút. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều cao của bản sắc ký. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm và 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

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

pH

4,0 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp dung dịch acid phosphoric 0,025 M được điều chỉnh tới pH 3 bằng triethylamin (TT) và acetonitril (TT) (87 : 13).

Dung dịch thử: Pha loãng chính xác một thể tích dung dịch chế phẩm tương đương với 6 mg ciprofloxacin tới vừa đủ 50,0 ml bằng pha động. Lắc đều, lọc.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng ciprofloxacin hydroclorid chuẩn hòa tan trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,14 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (10 μ m), nhiệt độ cột: 30 $^{\circ}$ C $\pm$ 1 $^{\circ}$ C.

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

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ciprofloxacin hydroclorid trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng của ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, và hàm lượng $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ trong ciprofloxacin hydroclorid chuẩn.

1 mg ciprofloxacin hydroclorid, $C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl$, tương đương 0,9010 mg ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$.

Bảo quản

Nơi mát, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng

Dung dịch 0,3 %.

VIÊN NÉN CIPROFLOXACIN***Tabellae Ciprofloxacin***

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa ciprofloxacin hydroclorid.

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

Hàm lượng ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng hoặc trắng ngà, không mùi.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Methanol - dicloromethan - amoniac đậm đặc - acetonitril (40 : 40 : 20 : 10).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 100 mg ciprofloxacin với 10 ml nước, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan một lượng ciprofloxacin hydroclorid chuẩn trong nước để được dung dịch có nồng độ ciprofloxacin 10 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Trước khi triển khai, để bản mỏng vào một bình có hơi amoniac (TT) trong 15 phút. Sau

đó triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô dung môi ngoài không khí 15 phút, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm và 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Trên sắc ký đồ thu được ở phần định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước cất.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan chế phẩm, lọc và pha loãng dịch lọc với nước đến nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 276 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng nước làm mẫu trắng. Song song đo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn ciprofloxacin hydroclorid ($C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl$) trong nước có nồng độ tương đương. Tính hàm lượng ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$, được hòa tan dựa theo hàm lượng của ciprofloxacin trong ciprofloxacin hydroclorid chuẩn.

1 mg ciprofloxacin hydroclorid, $C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl$, tương đương 0,9010 mg ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % ciprofloxacin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp dung dịch acid phosphoric 0,025 M được điều chỉnh đến pH 3,0 với triethylamin (TT) và acetonitril (TT) (87 : 13).

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg ciprofloxacin vào bình định mức 200 ml, thêm 150 ml nước và lắc siêu âm 20 phút. Pha loãng bằng nước đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng ciprofloxacin hydroclorid chuẩn trong nước để thu được dung dịch có nồng độ ciprofloxacin khoảng 0,25 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột sắc ký: Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 μm), cột Nucleosil 120-C18 là phù hợp. Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 278 nm.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn, hiệu lực của cột xác định trên pic chính có số đĩa lý thuyết không dưới 2500, hệ số đối xứng không lớn hơn 2 và độ lệch chuẩn tương đối của 6 lần tiêm nhắc lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 1,5 %.

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

Tính hàm lượng ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của ciprofloxacin trong ciprofloxacin hydroclorid chuẩn.

1 mg ciprofloxacin hydroclorid, $C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl$, tương đương 0,9010 mg ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín hoặc ép trong vỉ bấm, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

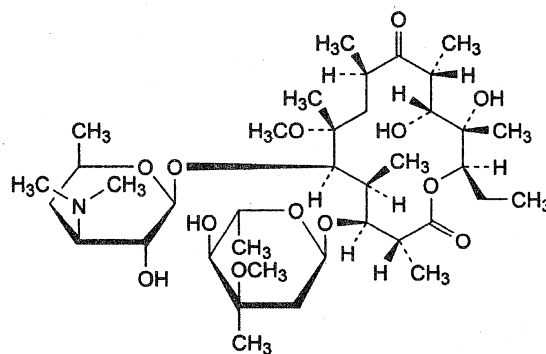
Kháng sinh nhóm quinolon.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg, 750 mg.

CLARITHROMYCIN

Clarithromycinum



$C_{38}H_{69}NO_{13}$

P.t.l: 748,0

Clarithromycin là (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- α -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-12,13-dihydroxy-7-methoxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy] oxacyclotetradecan-2,10-dion (6-*O*-methylerythromycin A), phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{38}H_{69}NO_{13}$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong aceton và methylen clorid, khó tan trong methanol.

Định tính

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *methylen clorid* (TT), pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch S phải trong hoặc không được đục hơn hỗn dịch chuẩn đối chiếu số II (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch màu mẫu V₇ (Phụ lục 9.3).

Góc quay cực riêng

Từ -94° đến -102°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch có chứa *kali dihydrophosphat* 0,476 %, điều chỉnh pH đến 4,4 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng* (TT) hoặc bằng *dung dịch kali hydroxyd* 4,5 %. Lọc qua màng lọc C18.

Pha động B: *Acetonitril* (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 75,0 mg chế phẩm trong 25 ml *acetonitril* (TT), pha loãng thành 50,0 ml với *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan khoảng 75,0 mg clarithromycin chuẩn trong 25 ml *acetonitril* (TT), pha loãng thành 50,0 ml với *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích của *acetonitril* (TT) và *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích của *acetonitril* (TT) và *nước*.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan khoảng 15,0 mg hỗn hợp các tạp chuẩn của clarithromycin trong 5,0 ml *acetonitril* (TT), pha loãng thành 10,0 ml với *nước*.

Dung dịch mẫu trắng: Pha loãng 25,0 ml *acetonitril* (TT) thành 50,0 ml với *nước*, trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *octadecylsilyl silica gel* (3,5 μm). Duy trì nhiệt độ cột ở 40 °C.

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

Thể tích tiêm: 10 μl.

Tốc độ dòng: 1,1 ml/min với chương trình dung môi:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 32	75 → 40	25 → 60
32 - 34	40	60
34 - 36	40 → 75	60 → 25
36 - 42	75	25

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

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

Độ thích hợp của hệ thống:

Hệ số đối xứng: Không được quá 1,7 đối với pic của clarithromycin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Tỷ số peak-valley (H_p/H_v): Ít nhất phải bằng 3,0 (tỷ số này được áp dụng để đánh giá độ thích hợp hệ thống trong phép thử tạp chất liên quan, khi 2 pic không tách hoàn toàn tới chân đường nền). H_p là chiều cao tính từ đường nền của pic tạp chất D; H_v là chiều cao tính từ đường nền đến điểm thấp nhất của đường cong phân tách giữa pic tạp chất D và pic của clarithromycin trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (4).

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính toán hàm lượng các tạp chất, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng. Tạp chất G có hệ số hiệu chỉnh bằng 0,27; tạp chất H có hệ số hiệu chỉnh bằng 0,15. Dùng dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất G và H.

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

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

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

Ghi chú:

Tạp chất A: Clarithromycin F.

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

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

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

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

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

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

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

Tạp chất I: 3-*O*-decladinosyl-6-*O*-methylethylerythromycin A.

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

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

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

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

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

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

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

Kim loại nặng

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

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

Nước

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 0,5 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Điều kiện sắc ký giống như ở phần thử Tạp chất liên quan.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1), từ diện tích pic đáp ứng của clarithromycin trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1), tính toán hàm lượng $C_{38}H_{69}NO_{13}$.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Nhãn

Phải quy định rõ thời hạn sử dụng và điều kiện bảo quản.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

Chế phẩm

Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch uống.

NANG CLARITHROMYCIN

Capsulae Clarithromycini

Là nang cứng chứa clarithromycin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

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

Tính chất

Nang cứng, bột thuốc trong nang màu trắng ngà.

Định tính

Trên sắc ký đồ thu được ở phần định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic clarithromycin trên sắc ký đồ của dung dịch clarithromycin chuẩn.

Nước

Không được quá 6,0 %.

Cân chính xác khoảng 0,25 g bột thuốc, sấy trong chân không dưới áp suất 5 mmHg ở 110 °C trong 3 giờ (Phụ lục 9.6).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

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

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

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn, và điều kiện sắc ký thực hiện như trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Lấy 1 phần môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng một lượng chính xác dịch lọc với pha động để được dung dịch có nồng độ clarithromycin khoảng 125 μ g/ml.

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

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

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

Dung dịch thử: Cân 20 nang thuốc, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 0,2 g clarithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 35 ml *methanol (TT)*, lắc trong 30 phút rồi thêm *methanol (TT)* tới định mức, để lắng. Lấy đúng 3,0 ml dịch ở trên thêm pha động vừa đủ 100,0 ml, trộn đều.

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

Dung dịch phân giải: Pha hợp chất A chuẩn của clarithromycin (6,11-di-*O*-methylethromycin A, $C_{39}H_{71}NO_{13}$) trong *methanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 625 µg/ml. Lấy 10,0 ml dung dịch này và 10,0 ml dung dịch chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch và trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột duy trì ở khoảng 50 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống ký: Triển khai sắc ký đối với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của clarithromycin khoảng 0,75 và của tạp chất A là 1,0. Độ phân giải giữa hai pic clarithromycin và tạp chất A phải không nhỏ hơn 2,0.

Triển khai sắc ký đối với dung dịch chuẩn, xác định trên pic clarithromycin, số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 750; hệ số đối xứng không nhỏ hơn 0,9 và không lớn hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

Triển khai sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

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

Bảo quản

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

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm macrolid.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg.

VIÊN NÉN CLARITHROMYCIN

Tabellae Clarithromycini

Là viên nén bao phim chứa clarithromycin.

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

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

Tính chất

Viên màu trắng hoặc trắng ngà hoặc có màu đồng đều.

Định tính

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

Nước

Không được quá 6,0 %.

Cân chính xác khoảng 0,25 g bột viên, sấy trong chân không dưới áp suất 5 mmHg ở 110 °C trong 3 giờ (Phụ lục 9.6).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

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

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

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn và điều kiện sắc ký thực hiện như trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng dịch lọc với pha động để thu được dung dịch có nồng độ clarithromycin khoảng 125 µg/ml.

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

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

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

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 0,2 g clarithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 35 ml *methanol* (TT), lắc trong 30 phút rồi thêm *methanol* (TT) vừa đủ, để lắng. Lấy 3,0 ml dịch ở trên thêm pha động vừa đủ 100,0 ml, trộn đều.

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

Dung dịch phân giải: Pha hợp chất A chuẩn (6,11-di-*O*-methyl erythromycin A, $C_{39}H_{71}NO_{13}$) của clarithromycin

trong *methanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 625 µg/ml. Lấy 10,0 ml dung dịch này và 10,0 ml dung dịch chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm pha động đến vạch và trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ duy trì ở khoảng 50 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của clarithromycin khoảng 0,75 và của tạp chất A là 1,0. Độ phân giải giữa pic của clarithromycin và tạp chất A phải không nhỏ hơn 2,0.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, xác định trên pic clarithromycin, số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 750, hệ số đối xứng không nhỏ hơn 0,9 và không lớn hơn 2,0, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic clarithromycin từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

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

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

Bảo quản

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

Loại thuốc

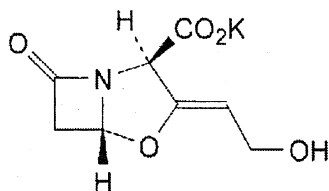
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg.

CLAVULANAT KALI

Kalii clavulanas



$C_8H_8KNO_5$

P.t.l: 237,3

Clavulanat kali là kali (2R,3Z,5R)-3-(2-hydroxyethyliden)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat, dạng muối kali của chế phẩm được tạo thành bằng cách nuôi cấy một số chủng *Streptomyces clavuligerus* hoặc bằng các phương pháp khác, phải chứa từ 96,5 % đến 102,0 % $C_8H_8KNO_5$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong aceton.

Sản xuất

Phương pháp sản xuất, chiết xuất và tinh chế sao cho clavam-2-carboxylat không có hoặc không vượt quá 0,01 %.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của clavulanat kali chuẩn.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng (B) của phép thử định tính ion kali (Phụ lục 8.1).

pH

5,5 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Dung dịch S: Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Pha loãng 5 ml dung dịch S trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng

Từ +53° đến +63°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Dùng dung dịch S.

Độ hấp thụ ánh sáng

Tối đa là 0,40 ở bước sóng 278 nm (Phụ lục 4.1).

Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 7,0 và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch này ngay lập tức.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động:

Pha động A: Dung dịch natri dihydrophosphat 0,78 %, đã được điều chỉnh tới pH 4,0 với acid phosphoric (TT) và lọc qua màng lọc 0,5 µm.

Pha động B: Pha động A - methanol (1 : 1).

Tiến hành sắc ký với chương trình dung môi theo bảng:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 → 4	100	0
4 → 15	100 → 50	0 → 50
15 → 18	50	50
18 → 24	50 → 100	50 → 0
24 → 39	100	0

Chỉ pha các dung dịch trước khi sử dụng:

Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử với pha động A thành 100,0 ml.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 10 mg clavulanat lithi chuẩn và 10 mg amoxicilin trihydrat chuẩn với pha động A và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải: Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic thứ nhất (clavulanat) và pic thứ 2 (amoxicilin) ít nhất là 13.

Tiêm dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ một tạp chất nào không được có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %). Tổng diện tích các pic tạp không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2,0 %). Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Các amin béo

Không được quá 0,2 %.

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Phương pháp dưới đây có thể dùng để xác định các amin béo sau:

1,1-dimethylethylamin; diethylamin; N,N,N',N'-tetramethylethylenediamin; 1,1,3,3-tetramethylbutylamin; N,N'-diisopropylethylenediamin; 2,2'-oxydi(N,N)-dimethylethylamin.

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 50 µl 3-methylpentan-2-on trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Cân 1,00 g chế phẩm vào ống ly tâm. Thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội, 5,0 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT), 10,0 ml nước, 5,0 ml 2-methylpropanol (TT) và 5 g natri clorid (TT). Lắc mạnh trong 1 phút. Ly tâm để tách lớp. Lấy lớp trên.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 80,0 mg mỗi chất sau: 1,1-dimethylethylamin (Tạp chất H); diethylamin (Tạp chất I); N, N, N', N' - tetramethylethylenediamin (Tạp chất J); 1,1,3,3-tetramethylbutylamin (Tạp chất K); N,N'-diisopropylethylenediamin (Tạp chất L) và 2,2'-oxybis(N,N-dimethylethylamin) (Tạp chất M) trong dung dịch acid hydrocloric loãng (TT) và pha loãng thành 200,0 ml với cùng dung môi. Hút 5,0 ml dung dịch này vào ống ly tâm. Thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội, 10,0 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT), 5,0 ml 2-methylpropanol (TT) và 5 g natri clorid (TT). Lắc mạnh trong 1 phút. Ly tâm để tách lớp. Lấy lớp trên.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy (50 m × 0,53 mm), được nhồi pha tĩnh là poly(dimethyl)(diphenyl) siloxan (TT) (bề dày phim 5 µm).

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký khí.

Tốc độ dòng: 8 ml/min.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 10.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 → 7	35
	7 → 10,8	35 → 150
	10,8 → 25,8	150
Buồng tiêm		200
Detector		250

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu.

So sánh với 3-methylpentan-2-on (thời gian lưu khoảng 11,4 phút); thời gian lưu tương đối của tạp chất H khoảng 0,55; tạp chất I khoảng 0,76; tạp chất J khoảng 1,07; tạp chất K khoảng 1,13; tạp chất L khoảng 1,33; tạp chất M khoảng 1,57.

Tiêm dung dịch thử: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: diện tích của các pic tương ứng với các pic tạp chất không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng trong dung dịch đối chiếu.

Acid 2-ethylhexanoic

Không được quá 0,8 % (Phụ lục 10.17).

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dùng cho sản xuất thuốc tiêm phân liều mà không tiến hành tiệt khuẩn nữa thì phải đạt yêu cầu phép Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,03 IU/mg. Nếu chế phẩm dùng cho sản xuất thuốc tiêm phân liều mà không tiến hành loại bỏ nội độc tố thì phải đạt yêu cầu phép thử Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch đệm phosphat pH 4,0 (hòa tan 15 g natri dihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước, điều chỉnh dung dịch tới pH 4,0 bằng acid phosphoric loãng) (5 : 95).

Chỉ pha dung dịch khi dùng.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong dung dịch natri acetat 0,41 % đã được điều chỉnh tới pH 6,0

bằng *acid acetic băng (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 50,0 mg clavulanat lithi chuẩn trong *dung dịch natri acetat 0,41 %* đã được điều chỉnh tới pH 6,0 với *acid acetic băng (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 50,0 mg clavulanat lithi chuẩn và 50,0 mg amoxicilin trihydrat chuẩn trong *dung dịch natri acetat 0,41 %* được điều chỉnh tới pH 6,0 với *acid acetic băng (TT)* và pha loãng đến 50,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (30 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 μm)*.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải: Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic thứ nhất (clavulanat) và pic thứ hai (amoxicilin) ít nhất là 3,5.

Tiêm dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

1 mg clavulanat (C₈H₉NO₅) tương đương với 1,191 mg C₈H₈KNO₅.

Bảo quản

Trong bao bì kín, ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C. Nếu chế phẩm vô khuẩn thì bảo quản trong bao gói kín khí và vô khuẩn.

Ghi nhãn

Ghi nhãn thuốc vô khuẩn và không có nội độc tố vi khuẩn, nếu chế phẩm đáp ứng các yêu cầu này.

Loại thuốc

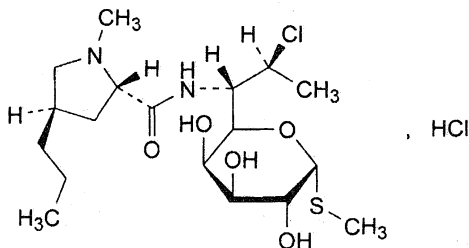
Thuốc ức chế beta-lactamase.

Chế phẩm

Viên nén kết hợp với amoxicilin.

CLINDAMYCIN HYDROCLORID

Clindamycini hydrochloridum



C₁₈H₃₃ClN₂O₅S.HCl

P.t.l: 461,5

Clindamycin hydroclorid là methyl 7-cloro-6,7,8-trideoxy-6-[[[2S,4R]-1-methyl-4-propylpyrrolidin-2-yl]carbonyl] amino]-1-thio-L-threo-α-D-galacto-octopyranosid hydroclorid, phải chứa từ 84,0 % đến 93,0 % clindamycin, C₁₈H₃₃ClN₂O₅S, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của clindamycin hydroclorid chuẩn.

B. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và đun nóng trong cách thủy 3 phút. Thêm 3 ml *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)* và 1 ml *dung dịch natri nitroprusiat 2 % (TT)*, màu đỏ tím xuất hiện.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được cho phản ứng A của clorid (Phụ lục 8.1).

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

Bản mỏng: *Silica gel G (TT)*.

Dung môi khai triển: *Isopropanol - dung dịch amoni acetat 15 % đã điều chỉnh đến pH 9,6 bằng amoniac - ethyl acetat (20 : 40 : 45)*. Trộn đều, để yên cho tách lớp và sử dụng lớp trên.

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg clindamycin hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg clindamycin hydroclorid chuẩn và 10 mg lincomycin hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để bay hơi hết dung môi ngoài không khí. Phun *dung dịch kali permanganat 0,1 %*. Vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách khỏi nhau rõ rệt.

pH

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được có pH từ 3,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +135° đến +150°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động và điều kiện sắc ký : Chuẩn bị theo như chỉ dẫn trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg clindamycin hydroclorid chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.

Cách tiến hành:

Tiến hành chạy sắc ký các dung dịch trên trong khoảng thời gian bằng 2 lần thời gian lưu của pic clindamycin và ghi lại sắc ký đồ.

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống: Trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1): Thời gian lưu tương đối so với pic của clindamycin (thời gian lưu khoảng 10 phút): Tạp chất A (lincomycin) khoảng 0,4; tạp chất B (clindamycin B) khoảng 0,65; tạp chất C (7-epiclindamycin) khoảng 0,8.

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

Tạp chất B: Diện tích của pic tương ứng với clindamycin B không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).

Tạp chất C: Diện tích của pic tương ứng với 7-epiclindamycin không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (4,0 %).

Diện tích pic của bất kỳ tạp chất liên quan nào khác ngoài hai tạp trên không được lớn hơn 1/2 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất liên quan không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (6,0 %).

Bỏ qua tất cả các pic có diện tích pic bằng 0,025 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Nước

Từ 3,0 % đến 6,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat pH 7,5: Hòa tan 6,8 g kali dihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước và điều chỉnh pH của dung dịch thu được đến 7,5 bằng dung dịch kali hydroxyd 25 %.

Pha động: Dung dịch đệm phosphat pH 7,5 - acetonitril (550 : 450). Tỷ lệ này có thể được điều chỉnh nếu cần (lưu ý: Tăng tỷ lệ acetonitril trong pha

động sẽ làm giảm thời gian lưu, giảm tỷ lệ này sẽ làm tăng độ phân giải giữa 7-epiclindamycin và clindamycin).
Dung dịch chuẩn: Sử dụng Dung dịch đối chiếu (1) trong mục Tạp chất liên quan.

Dung dịch thử: Sử dụng Dung dịch thử trong mục Tạp chất liên quan.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (4,6 mm × 25 cm) nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector: Quang phổ tử ngoại ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích của pic clindamycin thu được giữa 6 lần sắc ký lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 0,85 %.

Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử (ghi sắc ký đồ với thời gian khoảng hai lần thời gian lưu của pic clindamycin). Tính hàm lượng clindamycin từ các diện tích của pic clindamycin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và từ hàm lượng clindamycin, $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$, trong clindamycin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Kháng sinh họ lincosamid.

Chế phẩm

Thuốc nang.

NANG CLINDAMYCIN**Capsulae Clindamycini**

Là nang cứng có chứa clindamycin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nang” (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng clindamycin, $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng, bột thuốc trong nang màu trắng ngà.

Định tính

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

B. Phải có phản ứng đặc trưng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Nước

Không được quá 7,0 %.

Dùng khoảng 1,00 g bột thuốc (Phụ lục 10.3).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml đệm phosphat chuẩn pH 6,8 (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Thực hiện bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động và điều kiện sắc ký thực hiện như trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu.

Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch clindamycin hydroclorid chuẩn trong nước có nồng độ tương tự như dung dịch thử.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % lượng clindamycin, $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch A (30 : 21).

Dung dịch A: Hòa tan 2,88 g amoni dihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước, điều chỉnh tới pH 3,0 với dung dịch acid phosphoric 80 %.

Dung dịch thử: Cân thuốc trong 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong một nang, nghiền thành bột mịn, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg clindamycin hydroclorid và chuyển vào bình định mức 25 ml, thêm 20 ml pha động, lắc siêu âm để hòa tan, thêm pha động tới vạch. Lắc đều và lọc.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg clindamycin hydroclorid chuẩn hòa tan trong pha động vừa đủ 25,0 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột phải không ít hơn 1300.

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

Tính hàm lượng clindamycin, $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$, trong clindamycin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

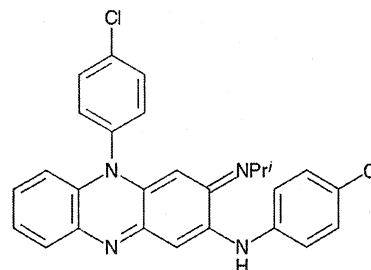
Trong đồ đựng kín, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

75 mg, 150 mg và 300 mg (tính theo clindamycin).

CLOFAZIMIN**Chlofaziminum**

$C_{27}H_{22}Cl_2N_4$

P.t.l: 473,4

Clofazimin là 3-(4-cloranilino)-10-(4-clorophenyl)-2,10-dihydrophenazin-2-ylideneisopropylamin, phải chứa từ 97,5 % đến 102,5 % $C_{27}H_{22}Cl_2N_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột mịn đa hình, màu nâu đỏ, không mùi hoặc hầu như không mùi. Thực tế không tan trong nước, tan trong cloroform, khó tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong ether.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của clofazimin chuẩn.

B. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) trong khoảng từ 230 nm đến 600 nm của dung dịch chế phẩm 0,001 % trong dung dịch acid hydrocloric 0,01 M trong methanol cho 2 cực đại hấp thụ ở bước sóng 283 nm và 487 nm. Độ hấp thụ ở bước sóng 283 nm là khoảng 1,30 và ở 487 nm là khoảng 0,64.

C. Hòa tan 2 mg chế phẩm trong 3 ml aceton (TT), thêm 0,1 ml acid hydrocloric (TT), màu tím đậm được tạo thành. Thêm 0,5 ml dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT), dung dịch chuyển sang màu đỏ cam.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch được chuẩn bị bằng cách hòa tan 2,25 g natri laurylsulfat, 0,85 g tetrabutyl amoni hydrosulfat và 0,885 g dinatri hydro phosphat trong nước vừa đủ 500 ml và được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng acid orthophosphoric (65 : 35).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (250 mm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B, 5 μm Nucleosil C8 là thích hợp.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

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

Thể tích tiêm: 20 µl

Sử dụng các dung dịch sau được hòa tan trong pha động:

Dung dịch thử: Dung dịch có chứa 0,005 % chế phẩm.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch có chứa 0,0000125 % iminophenazin chuẩn.

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 0,0005 % chế phẩm và 0,0005 % iminophenazin chuẩn.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa 2 pic chính ít nhất là 2, thời gian lưu tương đối của iminophenazin khoảng 0,7 và hiệu lực cột xác định dựa vào pic của clofazimin ít nhất là 3000 đĩa lý thuyết.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,25 %), và tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g chế phẩm; 105 °C)

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Với các điều kiện sắc ký như mô tả trong phần tạp chất liên quan.

Sử dụng các dung dịch sau được hòa tan trong pha động.

Dung dịch thử: Dung dịch có chứa 0,005 % chế phẩm.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch có chứa 0,005 % clofazimin chuẩn.

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 0,0005 % chế phẩm và 0,0005 % iminophenazin chuẩn.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải vào hệ thống sắc ký. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa 2 pic chính ít nhất là 2, thời gian lưu tương đối của iminophenazin khoảng 0,7 và hiệu lực cột xác định dựa vào pic của clofazimin có số đĩa lý thuyết ít nhất là 3000.

Tính hàm lượng phần trăm $C_{27}H_{22}Cl_2N_4$ của chế phẩm dựa vào hàm lượng $C_{27}H_{22}Cl_2N_4$ của clofazimin chuẩn.

Loại thuốc

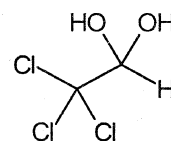
Thuốc trị bệnh phong.

Chế phẩm

Viên nang.

CLORAL HYDRAT

Clorali hydras



$C_2H_3Cl_3O_2$

P.t.l: 165,4

Cloral hydrat là 2,2,2-trichloroethan-1,1-diol, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_2H_3Cl_3O_2$.

Tính chất

Tinh thể trong suốt, không màu, mùi đặc biệt, vị cay. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

A. Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, hỗn hợp trở nên đục và khi đun nóng có mùi cloroform.

B. Lấy 1 ml dung dịch S, thêm 2 ml *dung dịch natri sulfat (TT)* màu vàng xuất hiện và nhanh chóng trở nên nâu đỏ. Để yên trong một thời gian ngắn, tủa đỏ có thể xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

pH

pH của dung dịch S phải từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Kim loại nặng

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

Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 20 ml bằng nước. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Clorid

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 5 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Cloral alcolat

Đun nóng 1,0 g chế phẩm với 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, lọc và thêm từng giọt *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* cho tới khi xuất hiện màu vàng. Để yên 1 giờ, không được xuất hiện tủa.

Cẩn không bay hơi

Không được quá 0,1 %.

Bốc hơi 2,000 g chế phẩm trên cách thủy. Khối lượng cẩn không được quá 2 mg.

Định lượng

Hòa tan 4,000 g chế phẩm trong 10 ml nước và thêm 40,0 ml dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ). Để yên chính xác 2 phút và chuẩn độ bằng dung dịch acid sulfuric 1 N (CĐ), dùng 0,1 ml dung dịch phenolphthalein (TT) làm chỉ thị. Chuẩn độ dung dịch đã trung hòa với dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ), dùng 0,2 ml dung dịch kali cromat (TT) làm chỉ thị. Tính số ml dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ) đã dùng bằng cách lấy thể tích dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ) cho vào lúc bắt đầu chuẩn độ trừ đi thể tích dung dịch acid sulfuric 1 N (CĐ) đã dùng trong lần chuẩn độ đầu tiên và hai phần mười lần thể tích dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ) dùng trong lần chuẩn độ thứ hai.

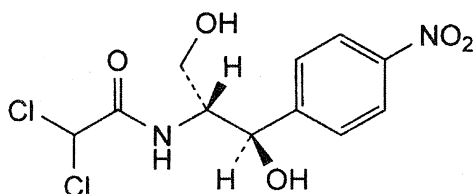
1 ml dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ) tương đương với 165,4 mg $C_2H_3Cl_3O_2$.

Bảo quản

Để trong lọ kín.

Loại thuốc

Thuốc ngủ.

CLORAMPHENICOL***Chloramphenicolum***

$C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$

P.t.l: 323,1

Cloramphenicol là 2,2-dicloro-N-[(1R,2R)-2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-2-(4-nitrophenyl)ethyl] acetamid, được điều chế bằng cách nuôi cấy một số chủng *Streptomyces venezuelae* trong môi trường thích hợp và thường được sản xuất bằng phương pháp tổng hợp. Chế phẩm phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng, trắng xám hoặc trắng vàng hay tinh thể hình kim hoặc phiến dài. Khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 % và trong propylen glycol. Dung dịch trong ethanol thì hữu tuyến, trong ethyl acetat thì tả tuyến.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm phép thử định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cloramphenicol chuẩn.

B. Điểm chảy từ 149 °C đến 153 °C (Phụ lục 6.7).

C. Trong phần thử Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của 1 µl dung dịch thử phải tương đương với vết chính của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.

D. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 1 ml ethanol 50 %, thêm 3 ml dung dịch calci clorid 1 % và 50 mg bột kẽm (TT), đun nóng trên cách thủy 10 phút. Lọc dung dịch nóng và để nguội. Thêm 0,1 ml benzoyl clorid (TT) và lắc 1 phút. Thêm 0,5 ml dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT) và 2 ml cloroform (TT), lắc. Lọc nước có màu đỏ tím nhạt đến đỏ tía.

E. Lấy 50 mg chế phẩm vào chén sứ, thêm 0,5 g natri carbonat khan (TT), đốt trên ngọn lửa trong 10 phút, để nguội. Hòa tan cân bằng 5 ml dung dịch acid nitric 2 M (TT) và lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml nước, dung dịch này phải cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm

Lắc 0,1 g chế phẩm với 20 ml nước không có carbon dioxyd (TT), thêm 0,1 ml dung dịch xanh bromothymol (TT). Không được dùng quá 0,1 ml dung dịch acid hydrocloric 0,02 M (CĐ) hoặc dung dịch natri hydroxyd 0,02 M (CĐ) để làm chuyển màu của chỉ thị.

Góc quay cực riêng

Từ +18,5° đến +20,5° (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 1,50 g chế phẩm trong ethanol (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,5%.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (90 : 10 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong acetone (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,10 g cloramphenicol chuẩn trong acetone (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 0,5 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100 ml bằng acetone (TT).

Cách tiến hành:

Châm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl và 20 µl dung dịch thử, 1 µl dung dịch đối chiếu (1) và 20 µl dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được từ 20 µl dung dịch thử không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Clorid

Không được quá 100 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 1,00 g chế phẩm, thêm 20 ml nước và 10 ml acid nitric (TT), lắc trong 5 phút. Lọc qua giấy lọc đã được rửa bằng cách lọc nhiều lần, mỗi lần với 5 ml nước cho đến khi 5 ml dịch lọc không bị đục khi thêm 0,1 ml acid nitric (TT) và 0,1 ml dung dịch bạc nitrat 4,25 % (TT).

Lấy 15 ml dịch lọc đem thử.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,0 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Chất gây sốt

Nếu chế phẩm dùng để pha chế thuốc tiêm truyền mà không xử lý loại chất gây sốt thì phải đạt yêu cầu phép thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4).

Tiêm 2,5 ml dung dịch chế phẩm trong nước có nồng độ 2 mg/ml cho mỗi kg trọng lượng thỏ.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 500,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng nước. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được tại bước sóng cực đại 278 nm.

Tính hàm lượng $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 278 nm.

Bảo quản

Tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm là vô khuẩn, bảo quản trong đồ đựng kín, tránh nhiễm khuẩn.

Nhãn

Phải quy định rõ điều kiện bảo quản. Phải ghi rõ nếu chế phẩm không có chất gây sốt.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

Chế phẩm

Viên nén, viên nang, thuốc nhỏ mắt.

NANG CLORAMPHENICOL

Capsulae Chloramphenicoli

Là nang cứng chứa cloramphenicol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng, bột thuốc trong nang trắng hay trắng ngà, không mùi.

Định tính

Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 0,1 g cloramphenicol, lắc với 10 ml ethanol (TT), lọc và bay hơi dịch lọc đến khô. Cẩn thu được dùng trong các phép thử sau:

A. Sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước 90 : 10 : 1).

Dung dịch thử: Dung dịch 1 % cồn trong ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cloramphenicol chuẩn 1 % trong ethanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải có giá trị R_f tương ứng với vết của dung dịch đối chiếu.

B. Hòa tan 10 mg cẩn thu được trong 2 ml ethanol 50 % (TT), thêm 4,5 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT), 50 mg kẽm bột (TT) để yên 10 phút, gạn lớp chất lỏng ở trên hoặc lọc nếu cần thiết. Làm lạnh dung dịch thu được trong nước đá, thêm 0,5 ml dung dịch natri nitrit 10 % (TT), sau 2 phút thêm 1 g ure (TT), 1 ml dung dịch 2-naphtol trong kiềm (TT) và 2 ml dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT), màu đỏ xuất hiện. Làm lại thí nghiệm này không có bột kẽm, dung dịch sẽ không có màu đỏ.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy 10 ml dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử. Lọc, bỏ dịch lọc đầu, pha loãng nếu cần và đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 278 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, đã hòa tan trong mỗi nang theo A (1 %, 1 cm), lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cloramphenicol ở cực đại hấp thụ 278 nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

2-Amino-1-(4-nitrophenyl) propan-1,3-diol

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch natri pentansulfonat 0,21 % - acetonitril - acid acetic băng (85 : 15 : 1).

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc trong nang đã trộn đều và nghiền mịn tương ứng với khoảng 40 mg cloramphenicol hòa tan với 100 ml pha động, lắc 10 phút để hòa tan, thêm pha động vừa đủ 200,0 ml, trộn đều và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Chứa 0,0002 % của 2-amino-1-(4-nitrophenyl) propan-1,3-diol chuẩn trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 μm) (Nucleosil C18 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 272 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với 2-amino-1-(4-nitrophenyl) propan-1,3-diol không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang. Trộn đều và nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột thuốc tương ứng với 40 mg cloramphenicol, thêm 4 ml ethanol (TT), pha loãng với nước trong bình định mức 200 ml tới vạch. Lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, lấy chính xác 10,0 ml dịch lọc pha loãng với nước vừa đủ 100,0 ml. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 278 nm trong cốc dày 1 cm, mẫu trắng là nước. Tính hàm lượng cloramphenicol theo A (1 %, 1 cm), lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cloramphenicol ở cực đại 278 nm.

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín, để nơi khô ráo, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg.

THUỐC NHỎ MẮT CLORAMPHENICOL

Collyrium Chloramphenicoli

Là dung dịch vô khuẩn của cloramphenicol trong nước.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nhỏ mắt” (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong suốt, không màu.

Định tính

Lấy một thể tích dung dịch chứa khoảng 50 mg cloramphenicol vào bình lắng gạn, thêm 15 ml nước. Chiết 4 lần, mỗi lần 25 ml ether (TT). Gộp các dịch chiết rồi để bay hơi đến khô. Cẩn thu được phải đáp ứng các phép thử A và B trong mục Định tính của chuyên luận “Nang cloramphenicol”.

pH

Từ 7,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

2-Amino-1-(4-nitrophenyl)propan-1,3-diol

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch natri pentansulfonat 0,21 % - acetonitril - acid acetic băng (85 : 15 : 1).

Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chế phẩm với pha động để thu được dung dịch có chứa cloramphenicol 0,050 %.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 2-amino-1-(4-nitrophenyl)propan-1,3-diol chuẩn 0,0040 % trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 μm) (Cột Nucleosil C18 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 272 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với 2-amino-1-(4-nitrophenyl) propan-1,3-diol không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Lấy chính xác một thể tích chế phẩm có chứa 20 mg cloramphenicol và pha loãng với nước thành 200,0 ml. Lấy 10,0 ml dung dịch này cho vào bình định mức 100 ml, thêm nước vừa đủ đến vạch. Lắc kỹ và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 278 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng nước làm mẫu trắng. Tính hàm lượng của cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, theo A(1 %, 1 cm). Lấy 297 là giá trị (1 %, 1 cm) của cloramphenicol ở cực đại 278 nm.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

0,4 %, 0,5 %.

VIÊN NÉN CLORAMPHENICOL**Tabellae Chloramphenicoli**

Là viên nén chứa cloramphenicol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g cloramphenicol, lắc với 10 ml *ethanol* (TT). Lọc, bay hơi dịch lọc đến khô. Cẩn thu được phải đáp ứng các phép thử A và B trong mục Định tính của chuyên luận “Nang cloramphenicol”.

Độ hòa tan

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu và tiến hành thử như mô tả ở mục Độ hòa tan của chuyên luận “Nang cloramphenicol”.

2-Amino-1-(4-nitrophenyl) propan-1,3-diol

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu và tiến hành thử như mô tả ở mục 2-amino-1-(4-nitrophenyl) propan-1,3-diol của chuyên luận “Nang cloramphenicol”.

Định lượng

Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1).

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 40 mg cloramphenicol, thêm 4 ml *ethanol* (TT), pha loãng với *nước* trong bình định mức 200 ml tới vạch. Lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, lấy chính xác 10,0 ml dịch lọc pha loãng với *nước* vừa đủ 100,0 ml. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 278 nm trong cốc dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. Tính hàm lượng cloramphenicol theo A (1 %, 1 cm), lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cloramphenicol ở cực đại 278 nm.

Bảo quản

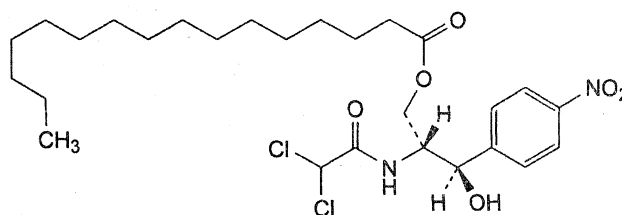
Đựng trong bao bì kín, để nơi khô ráo, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg.

CLORAMPHENICOL PALMITAT**Chloramphenicoli palmitas**

$C_{27}H_{42}Cl_2N_2O_6$

P.t.l: 561,6

Cloramphenicol palmitat là (2*R*,3*R*)-2-[(dichloroacetyl)-amino]-3-hydroxy-3-(4-nitrophenyl)propyl hexadecanoat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{27}H_{42}Cl_2N_2O_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột mịn màu trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton, hơi tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong n-hexan.

Khoảng nóng chảy từ 87 °C đến 95 °C.

Đa hình, dạng bền với nhiệt, có sinh khả dụng thấp khi dùng đường uống.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel H đã được silan hóa.

Dung môi khai triển: Dung dịch có chứa 10,0 % amoni acetat - ethanol 96 % (30 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT) và 5 ml *aceton* (TT), để yên trong 30 phút. Thêm 1,1 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M* (TT) và 3 ml *aceton* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg cloramphenicol chuẩn trong *aceton* (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg *acid palmitic* (TT) trong *aceton* (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *aceton* (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 μ l các dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, phun lên bản mỏng *dung dịch diclorofluorescein 0,02 %* và *dung dịch rhodamin B 0,01 % trong ethanol 96 %*. Để khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử cho ba vết tương ứng với các vết chính của các dung dịch đối chiếu (1), (2) và (3).

B. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 2 ml *pyridin* (TT), thêm 2 ml *dung dịch kali hydroxyd 10 %* (TT). Đun nóng trên cách thủy, màu đỏ tạo thành.

C. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml *ethanol 96 %* (TT), thêm 4,5 ml *dung dịch acid sulfuric loãng* (TT) và 50 mg *bột kẽm* (TT). Để yên trong 10 phút, gạn lấy dịch trong hoặc lọc nếu cần. Làm lạnh dung dịch trong nước đá và thêm 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 10 %* (TT). Để yên 2 phút, thêm 1 g *ure* (TT), 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M* (TT) và 1 ml *dung dịch β -naphthol* (TT). Màu đỏ tạo thành.

Giới hạn acid

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 5 ml hỗn hợp đồng thể tích *ethanol 96 %* (TT) và *ether* (TT), làm ấm đến 35 °C. Thêm 0,2 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT). Không được dùng quá 0,4 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (CD) để tạo màu hồng bền vững trong 30 giây.

Góc quay cực riêng

Từ +22,5° đến +25,5° (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *ethanol 96 %* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Cloramphenicol tự do

Không được quá 450 phần triệu.

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 80 ml *xylene* (TT) bằng cách đun nóng nhẹ. Làm nguội, chiết ba lần, mỗi lần với 15 ml *nước*. Gộp các dịch chiết nước và pha loãng thành 50 ml với *nước* và lắc với 10 ml *toluen* (TT). Để yên cho tách lớp, gạn bỏ lớp toluen. Lấy lớp nước đem ly tâm và đo độ hấp thụ A (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 278 nm. Mẫu trắng được chuẩn bị như trên, song không có chế phẩm. Độ hấp thụ của mẫu trắng không được lớn hơn 0,05.

Hàm lượng cloramphenicol tự do (phần triệu) được tính theo công thức:

$$\frac{A \times 10^4}{5,96}$$

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - cloroform - methanol (50 : 40 : 10).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *aceton* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg cloramphenicol palmitat isome chuẩn trong *aceton* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với *aceton* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg cloramphenicol dipalmitat chuẩn trong *aceton* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với *aceton* (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg cloramphenicol chuẩn trong *aceton* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với *aceton* (TT).

Cách tiến hành:

Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, các vết tương ứng với cloramphenicol palmitat isome và cloramphenicol dipalmitat không được đậm màu hơn các vết của dung dịch đối chiếu (1) và (2) (2,0 %). Bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính và các vết tương ứng với cloramphenicol palmitat isome, cloramphenicol dipalmitat không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 80 °C; phosphor pentoxyd; áp suất không quá 0,1 kPa; 3 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 90,0 mg chế phẩm trong *ethanol 96 %* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 250,0 ml với *ethanol 96 %* (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được tại bước sóng cực đại 271 nm.

Tính hàm lượng $C_{27}H_{42}Cl_2N_2O_6$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 178 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 271 nm.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

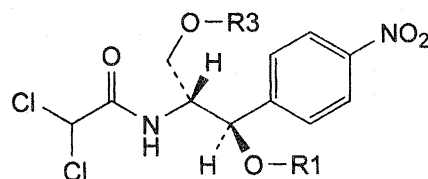
Kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch uống.

CLORAMPHENICOL SUCINAT NATRI

Chloramphenicoli natrii succinas



Đồng phân 1: R1 = CO-CH₂-CH₂-CO₂Na, R3 = H

Đồng phân 3: R1 = H, R3 = CO-CH₂-CH₂-CO₂Na

$C_{15}H_{15}Cl_2N_2NaO_8$

P.t.l: 445,2

Cloramphenicol natri succinat là hỗn hợp với tỷ lệ khác nhau của natri (2*R*,3*R*)-2-[(dicloroacetyl)amino]-3-hydroxy-3-(4-nitrophenyl)propyl butandioat (đồng phân 3) và natri (1*R*,2*R*)-2-[(dicloroacetyl)amino]-3-hydroxy-1-(4-nitrophenyl)propyl butandioat (đồng phân 1), phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{15}H_{15}Cl_2N_2NaO_8$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc trắng hơi vàng, hút ẩm. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dung dịch acid acetic 2 M - methanol - cloroform (1 : 14 : 85).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 2 ml acetone (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg cloramphenicol succinat natri chuẩn trong 2 ml acetone (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg cloramphenicol chuẩn trong 2 ml acetone (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l các dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử cho hai vết chính có vị trí và kích thước tương ứng với các vết chính của dung dịch đối chiếu (1) và có vị trí khác với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

B. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 1 ml ethanol 50 %, thêm 3 ml dung dịch calci clorid 1 % và 50 mg bột kẽm (TT), đun nóng trên cách thủy trong 10 phút. Lọc dung dịch nóng, làm nguội. Thêm 0,1 ml benzoyl clorid (TT) và lắc trong 1 phút. Thêm 0,5 ml dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT) và 2 ml cloroform (TT) và lắc. Lớp chất lỏng phía trên có màu đỏ tím nhạt đến màu đỏ tía.

C. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 1 ml pyridin (TT), thêm 0,5 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT) và 1,5 ml nước. Đun nóng trong cách thủy trong 3 phút, màu đỏ tạo thành. Thêm 2 ml acid nitric (TT) và làm nguội bằng cách cho dòng nước chảy qua. Thêm 1 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 M (TT), kết tủa màu trắng được tạo thành.

D. Chế phẩm cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

pH

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. pH của dung dịch thu được phải từ 6,4 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +5,0° đến +8,0° tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Cloramphenicol và cloramphenicol dinatri disuccinat

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp dung dịch acid phosphoric 2 % - methanol - nước (5 : 40 : 55).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg cloramphenicol chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi (dung dịch a). Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg cloramphenicol dinatri disuccinat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi (dung dịch b). Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong pha động, thêm 5 ml dung dịch (a) và 5 ml dung dịch (b), pha loãng thành 100 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (octadecylsilyl silica gel) (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 275 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải, dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, hai pic tương ứng với các pic của dung dịch đối chiếu (1) và (2) được tách rõ ràng ra khỏi hai pic tương ứng với hai pic chính của dung dịch thử. Điều chỉnh tỷ lệ methanol trong pha động nếu cần thiết.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với cloramphenicol không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (2,0 %); diện tích của pic tương ứng với cloramphenicol dinatri disuccinat không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).

Nước

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Chất gây sốt

Nếu chế phẩm dùng để pha chế thuốc tiêm mà không xử lý loại chất gây sốt thì phải đạt yêu cầu phép thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4).

Tiêm 2,5 ml dung dịch chế phẩm trong nước cất để pha thuốc tiêm có nồng độ 2 mg/ml cho mỗi kg trọng lượng thể.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 500,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng nước. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được tại bước sóng cực đại 276 nm.

Tính hàm lượng $C_{15}H_{15}Cl_2N_2NaO_8$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 220 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 276 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong bao bì vô khuẩn, kín, đảm bảo và tránh ánh sáng.

Nhãn

Ghi rõ chế phẩm không có chất gây sốt.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM CLORAMPHENICOL

Chloramphenicoli pro injectione

Bột pha tiêm cloramphenicol là bột kết tinh vô khuẩn của cloramphenicol natri succinat đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với nước vô khuẩn để tiêm ngay trước khi dùng.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, phải từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng ngà.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: Dung dịch acid acetic 2 M - methanol - cloroform (1 : 14 : 85).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột chế phẩm tương ứng với 50 mg cloramphenicol natri succinat trong 5 ml acetone (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg cloramphenicol natri succinat chuẩn trong 5 ml acetone (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan khoảng 50 mg cloramphenicol chuẩn trong 5 ml acetone (TT).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở

nhệt độ phòng. Quan sát dưới đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 2 vết chính tương ứng với 2 vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và vị trí của chúng phải khác với vị trí của vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

B. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 1 ml ethanol 50 % (TT). Thêm 3 ml dung dịch calci clorid 1 % và 50 mg kẽm bột (TT). Đun nóng trên nồi cách thủy 10 phút, lọc dung dịch đang nóng, để nguội. Thêm 0,1 ml benzoyl clorid (TT) và lắc trong 1 phút. Thêm 0,5 ml dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT), 2 ml cloroform (TT) và lắc. Lọc nước có màu đỏ tím đến màu tía.

C. Có phản ứng đặc trưng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 2,0 g cloramphenicol trong 10 ml nước không có carbon dioxyl (TT). Dung dịch này có pH từ 6,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Cloramphenicol và cloramphenicol disuccinat dinatri

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - methanol - dung dịch acid phosphoric 2 % (55 : 40 : 5).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột chế phẩm trong pha động để được dung dịch có nồng độ cloramphenicol 0,018 %.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch cloramphenicol disuccinat dinatri chuẩn 0,0005 % trong pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch cloramphenicol chuẩn 0,0005 % trong pha động.

Dung dịch phân giải: Chứa 0,0005 % cloramphenicol disuccinat dinatri chuẩn và 0,0005 % cloramphenicol chuẩn và 0,025 % chế phẩm trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tinh C (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 275 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký đối với các dung dịch trên. Phép thử chỉ có giá trị khi 2 pic trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải tương ứng với các pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2) được tách rõ ràng khỏi các pic tương ứng với hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử. Điều chỉnh nồng độ methanol trong pha động để đạt yêu cầu trên, nếu cần.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với cloramphenicol và cloramphenicol disuccinat dinatri không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) và (1) tương ứng (2 % cho mỗi tạp chất).

Nước

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,5 g chế phẩm.

Chất gây sốt

Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu về Thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4). Tiêm 2 ml dung dịch chứa 5 mg chế phẩm trong *nước để pha thuốc tiêm* cho 1 kg thử thí nghiệm.

Định lượng

Cân nhanh thuốc trong 10 đơn vị chế phẩm, tính khối lượng trung bình. Trộn đều nhanh, cân một lượng bột chế phẩm tương ứng khoảng 0,200 g cloramphenicol hòa tan trong *nước* vừa đủ 500,0 ml. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch trên pha loãng với *nước* thành 100,0 ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 276 nm, dùng *nước* làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, trong một đơn vị chế phẩm theo A (1 %, 1 cm). Lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cloramphenicol ở bước sóng 276 nm.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

1000 mg, tính theo cloramphenicol.

CLOROFORM**Chloroformium****Tricloromethan**

$CHCl_3$

P.t.l: 119,4

Cloroform có thể chứa 1,0 % đến 2,0 % ethanol hoặc 50 mg amylen trong một lít.

Tính chất

Chất lỏng không màu, trong suốt, dễ bay hơi và có mùi đặc biệt. Khó tan trong nước, trộn lẫn được với ethanol, ether, các chất dầu và đa số các dung môi hữu cơ theo mọi tỷ lệ.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C.

Nhóm II: A.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm được xác định sau khi đã rửa chế phẩm với *nước* và làm khan với *natri sulfat khan* (TT) phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của cloroform.

B. Đun vài giọt chế phẩm với vài giọt *anilin* (TT) và 1 ml đến 2 ml *dung dịch natri hydroxyd* 20 % (TT). Hơi bốc lên mùi đặc biệt của phenylisocyanid.

C. Đun sôi 2 giọt đến 3 giọt chế phẩm với 2 ml *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT) trong 1 phút. Để nguội. Acid hóa dung dịch này bằng *dung dịch acid nitric* 10 % (TT). Thêm vài giọt *dung dịch bạc nitrat* 5 % (TT). Xuất hiện tủa trắng vón; tủa tan trong *dung dịch amoniac* (TT).

Khoảng chưng cất

Không được quá 5,0 % (tt/tt) được cất dưới 60 °C và phần còn lại được cất ở nhiệt độ 60 °C đến 62 °C (Phụ lục 6.8).

Tỷ trọng

Từ 1,474 đến 1,479 (Phụ lục 6.5).

Giới hạn acid - kiềm

Dung dịch S: Lắc 10,0 ml chế phẩm với 20,0 ml *nước* vừa đun sôi để nguội trong 3 phút. Để phân lớp, lấy lớp nước.

Lấy 5,0 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch quỳ* trung tính. Màu của dung dịch này phải bằng màu của dung dịch gồm 5,0 ml *nước* vừa đun sôi để nguội và 0,1 ml *dung dịch quỳ* trung tính.

Clorid

Lấy 5,0 ml dung dịch S, thêm 5,0 ml *nước* và 0,2 ml *dung dịch bạc nitrat* 5 % (TT). Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2).

Clor tự do

Lấy 10,0 ml dung dịch S, thêm 5 giọt *dung dịch hồ tinh bột* (TT) và 3 giọt *dung dịch kali iodid* 10 % (TT). Dung dịch không được có màu xanh.

Aldehyd

Lắc 5,0 ml chế phẩm với 5 ml *nước* và 0,2 ml *dung dịch kali tetraiodomercurat* kiềm (TT), trong ống nghiệm có nắp. Để chỗ tối 15 phút. Cả 2 lớp không được có màu, hoặc chỉ được có màu hơi ngà vàng.

Hợp chất clor lạ

Lắc 20,0 ml chế phẩm trong 5 phút với 10,0 ml *acid sulfuric đậm đặc* (TT) trong bình có nút mài đã tráng trước bằng *acid sulfuric đậm đặc* (TT). Để chỗ tối 30 phút. Bỏ lớp acid. Lắc 15 ml lớp cloroform ở trên với 30,0 ml *nước* trong bình có nút mài trong 3 phút. Để phân lớp. Cho vào lớp *nước* 0,2 ml *dung dịch bạc nitrat* 5 % (TT). Để chỗ tối 5 phút. Dung dịch không được đục.

Tạp chất liên quan

Tổng hàm lượng của tất cả các tạp chất không được quá 1,0 % (tt/tt).

Thực hiện phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch (1): Chứa *carbon tetrachlorid* 0,2 % (tt/tt), *1,1,1-tricloroethan* (chất chuẩn nội) 0,2 % (tt/tt), *dicloromethan* 0,2 % (tt/tt), *ethanol* 0,2 % (tt/tt), *bromocloromethan* 0,5 % (tt/tt) và chế phẩm 0,2 % (tt/tt) trong *propan-1-ol*.

Dung dịch (2): là chế phẩm.

Dung dịch (3): chứa 1,1,1-tricloroethan (chất chuẩn nội) 0,2 % (tt/tt) pha trong chế phẩm.

Dung dịch (4): là propan-1-ol.

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (4 m × 3,0 mm) được nhồi bằng Kieselguhr đã được silan hóa và rửa bằng acid (từ 60 mesh đến 100 mesh) và được tẩm với 15 % (kl/kl) của di-2-cyanoethyl ether.

Khí mang: Là nitrogen dùng cho sắc ký khí, lưu lượng 30 ml/min.

Nhiệt độ: Cột ở 40 °C, buồng tiêm và detector ở 100 °C.

Thể tích tiêm: 0,1 µl.

Tiến hành: Phép thử chỉ có giá trị khi hiệu lực cột, được xác định trên pic cloroform trong sắc ký đồ của dung dịch (1), có số đĩa lý thuyết lớn hơn 700 đĩa/mét và tổng số số đĩa lý thuyết lớn hơn 2500.

Các pic trên sắc ký đồ của dung dịch (1) theo thứ tự sẽ là carbon tetraclohid, 1,1,1-tricloroethan, dicloromethan, cloroform, ethanol, bromocloromethan, propan-1-ol (dung môi).

Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch (4) để hiệu chỉnh các pic có trên sắc ký đồ của dung dịch (1) so với các pic phụ của dung môi.

Tỉ lệ diện tích của các pic carbon tetraclohid, dicloromethan, bromocloromethan với diện tích pic 1,1,1-tricloroethan (chất chuẩn nội) trên sắc ký đồ của dung dịch (3) không được lớn hơn các tỉ lệ này trên sắc ký đồ của dung dịch (1) và tỉ lệ của diện tích bất kì pic phụ nào khác rửa giải trước pic dung môi (ngoại trừ pic ethanol) so với diện tích pic 1,1,1-tricloroethan (chất chuẩn nội) cũng không được lớn hơn tỉ lệ diện tích pic cloroform so với diện tích pic 1,1,1-tricloroethan (chất chuẩn nội) trên sắc ký đồ của dung dịch (1).

Tính hàm lượng phần trăm theo thể tích của từng tạp chất xác định và của từng tạp chất khác so với cloroform trong chế phẩm.

Chất không bay hơi

Không được quá 0,004 %.

Lấy 25,0 ml chế phẩm cho vào cốc thủy tinh đã cân bì sẵn. Bốc hơi cách thủy đến khô. Sấy cạn ở 105 °C đến khối lượng không đổi. Khối lượng cân không được quá 1 mg.

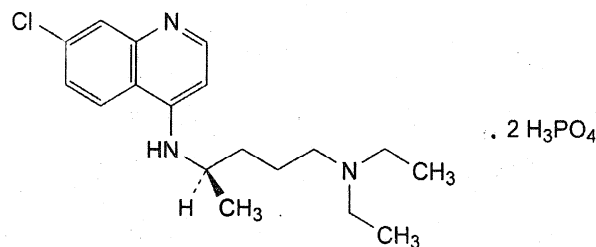
Bảo quản

Đựng trong lọ thủy tinh màu vàng nút kín. Để chỗ mát, tránh ánh sáng.

CLOROQUIN PHOSPHAT

Cloroquin phosphat

Cloroquin diphosphat, nivaquin phosphat, aralen



và đồng phân đối quang

$C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$

P.t.l: 515,9

Cloroquin phosphat là (RS)-4-(7-cloro-4-quinolylamino) pentyl-diethylamin diphosphat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, không mùi, vị đắng, dễ biến màu khi để ngoài ánh sáng, dễ hút ẩm.

Dễ tan trong nước, rất khó tan trong cloroform, ethanol 96 %, ether và methanol. Tồn tại ở 2 dạng, một dạng chảy ở khoảng 195 °C và dạng khác chảy ở khoảng 218 °C.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml nước, thêm 2 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), chiết 2 lần, mỗi lần với 20 ml methylen clorid (TT). Rửa dịch methylen clorid với nước, làm khan bằng natri sulfat khan (TT), làm bay hơi đến khô và hòa cần trong 2 ml methylen clorid (TT). Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của dung dịch này phải giống phổ hồng ngoại đối chiếu của dung dịch thu được từ 80 mg cloroquin sulfat chuẩn với cách chuẩn bị tương tự.

B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm 0,001 % trong nước ở bước sóng từ 210 nm đến 370 nm cho các cực đại hấp thụ lần lượt ở 220 nm, 235 nm, 256 nm, 329 nm và 342 nm. A (1 %, 1 cm) tương ứng lần lượt là 600 đến 660; 350 đến 390; 300 đến 330; 325 đến 355 và 360 đến 390.

C. Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 20 ml nước, thêm 5 ml dung dịch acid picric (TT) sẽ xuất hiện tủa vàng. Lọc và rửa tủa lần lượt với nước, ethanol 96 % (TT) và methylen clorid (TT). Tủa này có điểm chảy từ 206 °C đến 209 °C (Phụ lục 6.7).

D. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml nước, thêm 2 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), chiết 2 lần, mỗi lần với 10 ml methylen clorid (TT). Lọc nước sau khi được acid hóa bằng acid nitric (TT) cho phản ứng của phosphat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VN₅ hay VL₅ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT), pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

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

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - cyclohexan - diethylamin (50 : 40 : 10).

Dung dịch thử: 5,0 % chế phẩm trong nước.

Dung dịch đối chiếu (1): 0,050 % chế phẩm trong nước.

Dung dịch đối chiếu (2): 0,025 % chế phẩm trong nước.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất cứ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử cũng không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) và chỉ được có một vết như vậy đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng

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

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 10 ml nước, thêm 5 ml dung dịch amoniac 13,5 M (TT) và lắc với 40 ml methylen clorid (TT). Lọc lấy lớp nước, trung hòa dịch lọc bằng acid acetic băng (TT), đun nóng trên cách thủy để loại hết methylen clorid, làm lạnh và pha loãng với nước vừa đủ 20 ml. Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chỉ mẫu 2 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Cân 0,200 g chế phẩm, hòa tan trong 50 ml acid acetic khan (TT), thêm 2 giọt dung dịch tím tinh thể

(TT). Định lượng bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) cho tới khi dung dịch chuyển sang màu xanh lục hoặc có thể xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 25,79 mg C₁₈H₂₆ClN₃. 2H₃PO₄.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Trị sốt rét.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên bao đường, viên nén.

VIÊN NÉN CLOROQUIN PHOSPHAT

Tabellae Chloroquini phosphatis

Là viên nén chứa cloroquin phosphat.

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

Hàm lượng cloroquin phosphat, C₁₈H₂₆ClN₃.2H₃PO₄, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng, không mùi, vị đắng.

Định tính

A. Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g cloroquin phosphat trong hỗn hợp 10 ml nước và 2 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT). Chiết hai lần, mỗi lần với 20 ml cloroform (TT). Rửa dịch chiết cloroform bằng nước rồi lọc qua natri sulfat khan (TT). Bay hơi dịch chiết đến khô và hòa tan cần trong 2 ml cloroform dùng cho phổ hồng ngoại. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của cloroquin.

B. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 25 mg cloroquin phosphat, lắc kỹ với 20 ml nước, lọc. Thêm vào dịch lọc 8 ml dung dịch acid picric (TT) sẽ cho tủa màu vàng. Lọc và rửa tủa lần lượt với nước, ethanol 96 % (TT) và ether (TT). Tủa có điểm chảy (Phụ lục 6.7) ở khoảng 207 °C.

C. Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g cloroquin phosphat, thêm 25 ml nước, lắc, lọc. Thêm vào dịch lọc 2,5 ml dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT) và chiết 3 lần, mỗi lần với 10 ml ether (TT). Lọc nước, sau khi trung tính bằng dung dịch acid nitric loãng (TT), cho phản ứng của phosphat (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 344 nm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng cloroquin phosphat ($C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$) theo A (1 %, 1 cm), lấy 371 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 344 nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng cloroquin phosphat, $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - cyclohexan - diethylamin (50 : 40 : 10).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên có chứa 1 g cloroquin phosphat, thêm 20 ml nước, lắc 30 phút, ly tâm và dùng lớp chất lỏng ở trên, nếu cần thì lọc qua phễu thủy tinh xốp.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử với nước thành 100 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 25 ml dung dịch đối chiếu (1) với nước thành 50 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí và quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trong sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và không có quá một vết đậm hơn vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g cloroquin phosphat. Hòa tan trong 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và chiết 4 lần, mỗi lần với 25 ml *cloroform (TT)*. Tập hợp các dịch chiết cloroform và làm bay hơi cho đến khi thể tích còn lại khoảng 10 ml. Thêm 40 ml *acid acetic khan (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành một mẫu trắng.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)* tương đương với 25,79 mg $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

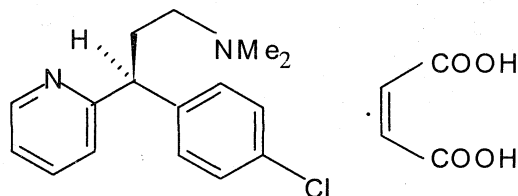
Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

50 mg, 500 mg.

CLORPHENIRAMIN MALEAT

Chlorpheniramin maleat



$C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$

P.t.l: 390,9

Chlorpheniramin maleat là (RS) -3-(4 clorophenyl) - 3 - (2-pyridyl) propyl dimethylamin hydrogen maleat, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, không mùi. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại của chlorpheniramin maleat chuẩn.

B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm 0,003 % (kl/tt) trong dung dịch *acid hydrocloric 0,1 M (TT)* ở bước sóng từ 230 nm đến 350 nm có 1 cực đại hấp thụ ở 265 nm. A (1 %, 1 cm) ở 265 nm từ 200 đến 220.

C. Lấy khoảng 0,2 g chế phẩm, thêm 3 ml nước và 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*. Chiết 3 lần, mỗi lần với 5 ml ether (TT). Lấy 0,1 ml lớp nước, thêm dung dịch gồm 0,01 g resorcin (TT) trong 3 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)*. Đun nóng trên nồi cách thủy 15 phút. Dung dịch không có màu. Cho vào phần lớp nước còn lại 2 ml nước brom (TT). Đun nóng trong nồi cách thủy 15 phút, đun sôi rồi để nguội. Lấy 0,2 ml dung dịch này, thêm dung dịch gồm 0,01 g resorcin (TT) trong 3 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)*. Đun trên cách thủy 15 phút, xuất hiện màu xanh lam.

D. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml nước, vừa lắc vừa thêm từng giọt một đến hết 25 ml *dung dịch bão hòa acid picric (TT)*. Lọc qua phễu lọc thủy tinh xốp. Rửa tủa bằng 3 ml ethanol 96 % (TT). Kết tinh lại từ ethanol 50 %. Sấy khô tinh thể ở 100 °C đến 105 °C. Điểm chảy của các tinh thể này từ 196 °C đến 200 °C (Phụ lục 6.7).

E. Điểm chảy: 132 °C đến 135 °C (Phụ lục 6.7, phương pháp 1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch chế phẩm 10 % trong nước phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - cloroform - diethylamin (50 : 40 : 10).

Dung dịch thử: Chứa 5 % chế phẩm trong cloroform (TT).

Dung dịch đối chiếu: Chứa 0,01 % chế phẩm trong cloroform (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (trừ vết còn lại trên vạch xuất phát).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,00 g; 100 °C đến 105 °C; 4 h).

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan khoảng 0,150 g chế phẩm trong 10 ml *acid acetic băng (TT)*. Thêm 1 giọt *dung dịch tím tinh thể (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* cho đến khi dung dịch chuyển sang màu xanh. Song song tiến hành mẫu trắng.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 19,54 mg C₁₆H₁₉ClN₂·C₄H₄O₄.

Bảo quản

Đựng trong chai lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chất đối kháng thụ thể histamin H₁.

Chế phẩm

Dung dịch tiêm, dung dịch uống, viên nén.

VIÊN NÉN CLORPHENIRAMIN**Tabellae Chlorpheniramini**

Là viên nén chứa clorpheniramin maleat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng clorpheniramin maleat, C₁₆H₁₉ClN₂·C₄H₄O₄, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng hoặc vàng nhạt.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dung dịch acid acetic 1 M - methanol - ethyl acetat (20 : 30 : 50)

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương đương khoảng 5 mg clorpheniramin maleat với *cloroform (TT)*, lọc, bay hơi dịch lọc đến cạn. Hòa tan cạn trong 1 ml *cloroform (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch clorpheniramin maleat chuẩn 0,5 % trong *cloroform (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản sắc ký ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phun thuốc thử kali iodobismuthat loãng (TT) lên bản sắc ký. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Diethylamin - cloroform - cyclohexan (10 : 40 : 50)

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương đương khoảng 50 mg clorpheniramin maleat với *cloroform (TT)*, lọc, bay hơi dịch lọc đến cạn. Hòa tan cạn trong 1 ml *cloroform (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử với *cloroform (TT)* thành 500 thể tích.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Lấy bản sắc ký ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Không tính các vết tại điểm xuất phát.

Định lượng

Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1).

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương đương khoảng 3 mg clorpheniramin maleat cho vào bình gạn có chứa sẵn 20 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*, lắc kỹ 5 phút, thêm 20 ml ether

(TT), lắc kỹ và lọc lớp acid vào một bình gạn thứ hai. Chiết lớp ether thêm 2 lần, mỗi lần với 10 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*. Rửa phễu và giấy lọc bằng *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*. Tập trung dịch lọc và dịch rửa, kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M* đến khi làm xanh giấy quỳ đỏ, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* nữa. Lắc đều. Chiết 2 lần, mỗi lần với 50 ml *ether (TT)*, rửa mỗi dịch chiết ether với 20 ml *nước*. Tập trung dịch chiết ether, chiết 3 lần với 20 ml, 20 ml và 5 ml *dung dịch acid sulfuric 0,25 M (TT)*. Tập trung dịch chiết acid vào bình định mức 50 ml, thêm *dung dịch acid sulfuric 0,25 M (TT)* tới định mức, lắc đều. Lấy chính xác 10 ml dung dịch này pha loãng với *dung dịch acid sulfuric 0,25 M (TT)* vừa đủ 25 ml. Lắc đều và lọc. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 265 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid sulfuric 0,25 M (TT)* làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng clorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 212 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 265 nm.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

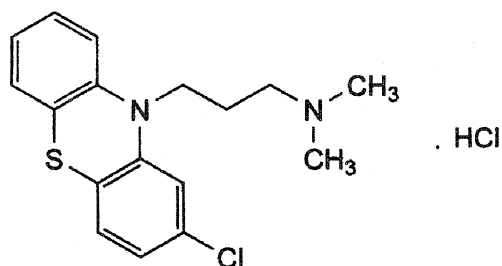
Kháng histamin.

Hàm lượng thường dùng

2 mg, 4 mg.

CLORPROMAZIN HYDROCLORID

Chlorpromazini hydrochloridum



$C_{17}H_{19}ClN_2S \cdot HCl$

P.t.l: 355,3

Clorpromazin hydroclorid là 3-(2-cloro-10H-pheno-thiazin-10-yl)-N,N-dimethylpropan-1-amin hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{17}H_{19}ClN_2S \cdot HCl$, tính theo chế phẩm đã được làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc hầu như trắng, hơi có mùi, vị đắng, dễ hút ẩm. Khi tiếp xúc với ánh sáng và không khí, chế phẩm thẫm màu dần do bị phân hủy.

Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong cloroform, ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether, benzen. Dung dịch trong nước có phản ứng acid. Chảy ở khoảng 196 °C.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của clorpromazin hydroclorid chuẩn. Pha dung dịch 6,0 % trong *methylen clorid (TT)*, sử dụng cuvet 0,1 mm.

B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 500 ml với cùng dung môi. Lấy 5,0 ml dung dịch trên pha loãng thành 100 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Ở dải sóng từ 230 nm đến 340 nm, dung dịch trên có 2 cực đại hấp thụ ở 254 nm và 306 nm. A (1 %, 1 cm) ở 254 nm từ 890 đến 960. (Chú ý: Chuẩn bị các dung dịch dưới ánh sáng dịu và đo ngay).

C. Dung dịch chế phẩm trong *nước* cho phản ứng (B) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Dung dịch chế phẩm 10 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa mới pha có pH 3,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - aceton - diethylamin (80 : 10 : 10).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm *methanol - diethylamin (95 : 5)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 200 ml bằng hỗn hợp dung môi *methanol - diethylamin (95 : 5)*.

Các dung dịch này chỉ pha ngay trước khi dùng.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để ngoài không khí cho khô rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (không kể vết còn lại trên tuyến xuất phát) cũng không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm để thử.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* thêm vào giữa hai điểm uốn.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 35,53 mg $C_{17}H_{19}ClN_2S.HCl$.

Bảo quản

Đựng trong chai lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc điều trị bệnh tâm thần và chống nôn.

Chế phẩm

Dung dịch tiêm, dung dịch uống, viên nén.

THUỐC TIÊM CLORPROMAZIN HYDROCLORID

Injectio Chlorpromazini hydrochloridi

Là dung dịch vô khuẩn của clorpromazin hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng clorpromazin hydroclorid, $C_{17}H_{19}ClN_2S.HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu hoặc gần như không màu.

Định tính

A. Lấy một thể tích thuốc tiêm tương ứng với 0,1 g clorpromazin hydroclorid, thêm 20 ml *nước* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*. Lắc đều và chiết với 25 ml *ether (TT)*. Rửa lớp ether 2 lần, mỗi lần với 5 ml *nước*. Lọc dịch chiết ether qua *natri sulfat khan (TT)*, bay hơi dịch chiết ether. Hòa cần thu được trong 1 ml *cloroform (TT)*. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của clorpromazin.

B. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử (trong phần Định lượng) ở khoảng bước sóng từ 220 đến 340 nm phải có 2 cực đại hấp thụ ở 254 nm và 306 nm.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 4,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - acetone - diethylamin (80 : 10 : 10).

Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích thích hợp thuốc tiêm, nếu cần, với hỗn hợp *methanol - diethylamin (95 : 5)* để được dung dịch chứa clorpromazin hydroclorid 0,5 %.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 20 thể tích bằng hỗn hợp *methanol - diethylamin (95 : 5)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích bằng hỗn hợp *methanol - diethylamin (95 : 5)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bắt kỳ một vết phụ nào ngoài vết chính không được có màu đậm hơn màu của vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) và không có quá 1 vết phụ có màu đậm hơn màu của vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2).

Định lượng

Thực hiện trong điều kiện tránh ánh sáng.

Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với 100 mg clorpromazin hydroclorid cho vào một bình định mức 500 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến vạch và lắc đều. Lấy chính xác 10 ml dung dịch này cho vào bình gạn có dung tích 250 ml, thêm 20 ml *nước*, kiềm hóa bằng *dung dịch amoniac 5 M (TT)* và chiết 4 lần, mỗi lần với 25 ml *ether (TT)*. Tập trung dịch chiết ether vào một bình gạn có dung tích 250 ml, chiết 4 lần, mỗi lần với 25 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tập trung các dịch chiết acid vào bình định mức 250 ml, thổi không khí để làm bay hết ether, sau đó thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ tới vạch. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 254 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Tính hàm lượng clorpromazin hydroclorid, $C_{17}H_{19}ClN_2S.HCl$, trong chế phẩm theo A (1 %, 1 cm). Lấy 915 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 254 nm.

Bảo quản

Đề nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống loạn thần, chống nôn, chống rối loạn vận động.

Hàm lượng thường dùng

25 mg/ml.

VIÊN NÉN CLORPROMAZIN HYDROCLORID***Tabellae Chlorpromazini hydrochloridi***

Là viên nén bao chứa clorpromazin hydroclorid.

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

Hàm lượng clorpromazin hydroclorid, $C_{17}H_{19}ClN_2S.HCl$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao phải nhẵn, không nứt cạnh, không dính tay, đồng đều về màu sắc. Bên trong viên bao có màu trắng.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 40 mg clorpromazin hydroclorid, thêm 10 ml nước và 2 ml dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT). Lắc đều và chiết với 15 ml ether (TT). Rửa lớp ether 2 lần, mỗi lần với 5 ml nước. Lọc dịch chiết ether qua natri sulfat khan (TT), bay hơi dịch chiết ether. Hòa cần thu được trong 0,4 ml cloroform (TT). Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của clorpromazin.

B. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử (trong phần định lượng) ở khoảng bước sóng từ 220 đến 340 nm phải có 2 cực đại hấp thụ ở 254 nm và 306 nm.

C. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 25 mg clorpromazin hydroclorid với 25 ml nước. Lọc, dịch lọc cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Thực hiện bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - aceton - diethylamin (80 : 10 : 10).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên đã nghiền nhỏ tương ứng với 0,1 g clorpromazin hydroclorid với 10 ml hỗn hợp methanol - diethylamin (95 : 5), lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích bằng hỗn hợp methanol - diethylamin (95 : 5).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất cứ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (không kể vết còn lại ở điểm xuất phát) không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần môi trường đã hòa tan hoạt chất, lọc và pha loãng một thể tích thích hợp dịch lọc với dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) để được dung dịch có nồng độ clorpromazin hydroclorid khoảng 0,0005 %. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 254 nm, dùng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng clorpromazin hydroclorid, $C_{17}H_{19}ClN_2S.HCl$, được hòa tan trong viên. Lấy 915 là giá trị A (1 %, 1 cm) của clorpromazin hydroclorid trong môi trường hòa tan ở cực đại hấp thụ 254 nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng clorpromazin hydroclorid, $C_{17}H_{19}ClN_2S.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Thực hiện trong điều kiện tránh ánh sáng.

Cân 20 viên, loại bỏ lớp vỏ bao nếu cần, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 25 mg clorpromazin hydroclorid cho vào bình định mức 250 ml. Thêm khoảng 150 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT), lắc khoảng 15 phút, thêm dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) đến vạch, trộn đều. Lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, hút chính xác 5 ml dịch lọc, thêm dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) vừa đủ 100,0 ml. Đo ngay độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch này ở bước sóng cực đại 254 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).

Tính hàm lượng clorpromazin hydroclorid, $C_{17}H_{19}ClN_2S.HCl$, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 915 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại hấp thụ 254 nm.

Bảo quản

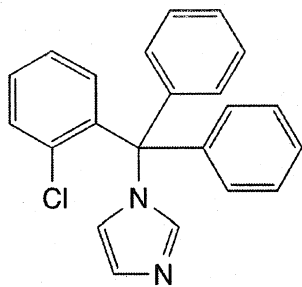
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống loạn thần, chống nôn, chống rối loạn vận động.

Hàm lượng thường dùng

10 mg và 25 mg.

CLOTTRIMAZOL**Clotrimazolum**C₂₂H₁₇ClN₂

P.t.l: 344,8

Clotrimazol là 1-[(2-clorophenyl)diphenylmethyl]-1H-imidazol, phải chứa từ 98,5 % đến 100,5 % C₂₂H₁₇ClN₂, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc vàng nhạt, thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol 96 % và methylen clorid, khó tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của clotrimazol chuẩn.

B. Điểm chảy : 141 °C đến 145 °C (Phụ lục 6.7).

C. Trên sắc ký đồ thu được ở phần thử (2-Clorophenyl) diphenylmethanol, kiểm tra vết dưới ánh sáng tử ngoại tại 254 nm (trước khi phun thuốc thử hiện màu), vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương ứng về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1).

D. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 3 ml *acid sulfuric* (TT), dung dịch có màu vàng nhạt. Thêm 10 mg *thủy ngân oxyd* (TT) và 20 mg *natri nitrit* (TT), để yên và thỉnh thoảng lắc. Màu da cam tạo thành, chuyển thành màu nâu ánh da cam.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

(2-Clorophenyl) diphenylmethanol

Không được lớn hơn 0,2 %.

Tiến hành theo phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Toluene - propanol - amoniac đậm đặc (90 : 10 : 0,5).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) đến 10 ml bằng *ethanol* 96 % (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg clotrimazol chuẩn trong *ethanol* 96 % (TT) vừa đủ 5 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg (2-clorophenyl) diphenylmethanol chuẩn trong vừa đủ 5 ml *ethanol* 96 % (TT). Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *ethanol* 96 % (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được ít nhất 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí, phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric* 10 % (tt/tt) trong *ethanol* 96 % và sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 30 phút.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), vết tương ứng với vết của (2-clorophenyl) diphenylmethanol không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Imidazol

Không được quá 0,2 %.

Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluene - propanol - amoniac đặc (90 : 10 : 0,5).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg *imidazol* (TT) trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *ethanol* 96 % (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí.

Trong một bình sắc ký khác, ở đáy bình đặt một cốc rộng miệng có chứa 50 ml hỗn hợp *acid hydrochloric* - nước - *dung dịch kali permanganat* 1,5 % (10 : 10 : 20). Đậy kín bình và để yên 15 phút. Đặt bản mỏng đã làm khô ở trên vào bình, để yên cho tiếp xúc với hơi clor trong 5 phút. Lấy bản mỏng ra và thổi bằng một luồng không khí lạnh cho đến khi đuổi hết hơi clor thừa [khi nhỏ một giọt *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid* (TT) lên phần bản mỏng ở dưới đường chấm sắc ký, không tạo thành màu xanh]. Phun bản mỏng với *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid* (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất cứ vết phụ nào tương ứng với imidazol không được đậm hơn vết của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Định lượng

Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6).

Cân chính xác khoảng 0,300 g chế phẩm, hòa tan trong 80 ml *acid acetic khan* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ), dùng *dung dịch naphtholbenzein* (TT) làm chỉ thị, đến khi màu chuyển từ vàng nâu sang màu xanh lá.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 34,48 mg $C_{22}H_{17}ClN_2$.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Nhãn

Phải quy định rõ thời hạn sử dụng và điều kiện bảo quản.

Loại thuốc

Kháng nấm.

Chế phẩm

Viên đặt, kem clotrimazol.

KEM CLOTRIMAZOL***Cremoris clotrimazoli***

Là kem bôi da có chứa clotrimazol.

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

Hàm lượng clotrimazol, $C_{22}H_{17}ClN_2$, 90,0 % đến 110 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Kem mịn màu trắng sữa, đồng nhất, hầu như không mùi.

Định tính

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

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Lầy ether ethylic (TT) cho vào trong bình sắc ký. Sau đó, đặt cốc thủy tinh đựng sẵn 25 ml *amoniac 13,5 M* (TT) vào trong bình sắc ký trên, đậy kín, để bão hòa dung môi.

Dung dịch thử: Lắc một lượng chế phẩm có chứa khoảng 20 mg clotrimazol với 20 ml ethanol (TT). Đặt trên bếp cách thủy cho chế phẩm chảy lỏng, khuấy kỹ để hòa tan hoạt chất. Sau đó đặt vào nước đá trong khoảng 20 phút. Lọc lấy dung dịch trong.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch clotrimazol chuẩn 0,1 % trong ethanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi một dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 254 nm hoặc phun thuốc thử Dragendorff (TT). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch dikali hydrophosphat 0,44 % (70 : 30) (Thay đổi tỷ lệ nếu cần).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg clotrimazol chuẩn, hòa tan trong ethanol (TT) và pha loãng tới 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Cân chính một lượng chế phẩm có chứa khoảng 30 mg clotrimazol vào cốc, thêm 25 ml ethanol (TT), đặt trên bếp cách thủy khuấy cho tan, để lạnh trong nước đá ít nhất 30 phút. Gạn và lọc qua giấy lọc đã thấm ướt bằng ethanol (TT). Tiếp tục chiết như trên 2 lần nữa, mỗi lần 10 ml ethanol (TT). Rửa cốc và giấy lọc bằng ethanol (TT). Tập trung các dịch lọc và dịch rửa, thêm ethanol (TT) cho vừa đủ 50 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 đến 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 2500. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic clotrimazol trong 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng clotrimazol, $C_{22}H_{17}ClN_2$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{17}ClN_2$ trong clotrimazol chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Thuốc chống nấm tại chỗ, phổ rộng.

Hàm lượng thường dùng

1 %, 3 %.

VIÊN NÉN ĐẶT ÂM ĐẠO CLOTRIMAZOL***Tabellae vaginalis Clotrimazoli***

Là viên nén đặt âm đạo có chứa clotrimazol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng clotrimazol, $C_{22}H_{17}ClN_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén dài màu trắng hoặc có màu đồng đều.

Định tính

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

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac - propanol - toluen (0,5 : 10 : 90).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g clotrimazol với 10 ml ethanol (TT), lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch clotrimazol chuẩn 1 % trong ethanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp 30 thể tích dung dịch acid phosphoric 0,02 M và 70 thể tích methanol (TT), điều chỉnh tới pH 7,5 với dung dịch triethylamin 10 % trong methanol.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg clotrimazol chuẩn, hòa tan với 70 ml methanol (TT) và thêm dung dịch acid phosphoric 0,02 M vừa đủ 100,0 ml. Pha loãng chính xác 1 thể tích dung dịch này thành 5 thể tích với một hỗn hợp gồm 70 thể tích methanol (TT) và 30 thể tích dung dịch acid phosphoric 0,02 M.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên có chứa khoảng 0,1 g clotrimazol, thêm 50 ml methanol (TT), lắc 20 phút, pha loãng thành 250 ml với methanol (TT). Lọc, lấy 10,0 ml dịch lọc, thêm 60 ml methanol (TT) và thêm dung dịch acid phosphoric 0,02 M vừa đủ 100,0 ml, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 2500.

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

Tính hàm lượng clotrimazol, $C_{22}H_{17}ClN_2$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{17}ClN_2$ trong clotrimazol chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

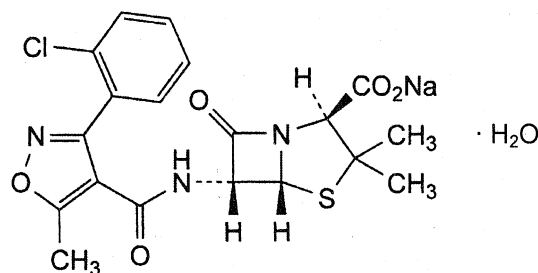
Thuốc chống nấm tại chỗ, phổ rộng.

Hàm lượng thường dùng

100 mg và 500 mg.

CLOXACILIN NATRI

Cloxacillinum natrium



$C_{19}H_{17}ClN_3NaO_5S \cdot H_2O$

P.t.l: 475,9

Cloxacilin natri là natri (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[[3-(2-chloro-phenyl)-5-methylisoxazol-4-yl]carbonyl]amino]-3,3-dime-thyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat, phải chứa từ 95,0 % đến 101,0 % $C_{19}H_{17}ClN_3NaO_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước và methanol, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cloxacilin natri chuẩn.

B. Tiến hành sắc ký lớp mỏng theo định tính các penicilin (Phụ lục 8.2).

C. Phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).

D. Chế phẩm cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) tại bước sóng 430 nm không được quá 0,04.

pH

Dung dịch S có pH từ 5,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +160° đến +169° tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

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

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

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

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký giống như ở phần Định lượng.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử, tiến hành sắc ký với thời gian rửa giải gấp năm lần thời gian lưu của pic chính. Tiêm dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của các pic phụ không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1,0 %), tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn năm lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (5,0 %). Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu.

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16; phương pháp 2).

2-Ethylhexanoic acid

Không được quá 0,8 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Nước

Từ 3,0 % đến 4,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Nội độ tổ vi khuẩn

Không được quá 0,40 IU/mg (Phụ lục 13.2), nếu chế phẩm được dự tính để sản xuất các dạng thuốc tiêm phân liều mà không có các phương pháp loại nội độ tổ vi khuẩn.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 0,27 % đã được điều chỉnh pH đến 5,0 với dung dịch natri hydroxyd 2 M (25 : 75).

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

Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử được thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 50,0 mg cloxacilin natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg flucloxacilin natri chuẩn và 5 mg cloxacilin natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (octadecylsilyl silica gel) (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch phân giải. Điều chỉnh thang đo sao cho chiều cao của các pic chính bằng khoảng 50 % toàn thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tương ứng với cloxacilin (pic thứ nhất) và pic tương ứng với flucloxacilin (pic thứ hai) ít nhất phải bằng 2,5. Tiêm dung dịch chuẩn sáu lần, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic chính không được lớn hơn 1,0 %. Tiêm dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng của C₁₉H₁₇ClN₃NaO₅S trong chế phẩm dựa vào diện tích pic đáp ứng của dung dịch thử và dung dịch chuẩn và hàm lượng của C₁₉H₁₇ClN₃NaO₅S trong cloxacilin natri chuẩn.

Bảo quản

Bao bì kín, nhiệt độ không được quá 25 °C. Nếu chế phẩm là vô trùng, bảo quản trong bao bì vô trùng, bảo đảm và kín.

Nhãn

Phải ghi rõ nếu chế phẩm không có nội độ tổ vi khuẩn.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

Chế phẩm

Thuốc tiêm truyền.

NANG CLOXACILIN**Capsulae Cloxacillini**

Là nang cứng chứa cloxacilin natri.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nang” (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau.

Hàm lượng cloxacilin, C₁₉H₁₈ClN₃O₅S, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng nhẵn bóng, không méo mó, bột thuốc bên trong đồng nhất.

Định tính

A. Ở phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có một pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cloxacilin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Hòa tan khoảng 50 mg chế phẩm trong 2 ml nước, lọc. Acid hóa dịch lọc bằng *dung dịch acid acetic loãng (TT)*, thêm 1 ml *dung dịch magnesi uranyl acetat (TT)*, cọ thành ống nghiệm bằng một đũa thủy tinh nếu cần, sẽ cho tủa kết tinh vàng.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 6,8 (TT)*.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, *dung dịch chuẩn*, điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc bằng pha động để thu được dung dịch thử có nồng độ cloxacilin 0,01 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Tính hàm lượng cloxacilin đã hòa tan dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng cloxacilin trong cloxacilin natri chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % lượng cloxacilin, $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Nước

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Pha dung dịch *kali dihydrophosphat (TT)* 0,02 M trong nước, điều chỉnh đến pH 6,8 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*.

Pha động: *Dung dịch đệm - acetonitril* (70 : 30).

Dung dịch chuẩn: Pha cloxacilin natri chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ cloxacilin 0,01 %.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, xác định khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg cloxacilin vào bình định mức 200 ml, thêm 150 ml pha động, lắc để hòa tan và thêm pha động vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc và bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 25,0 ml bằng pha động, trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với *dung dịch chuẩn*. Độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng cloxacilin, $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng cloxacilin trong cloxacilin natri chuẩn.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín. Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

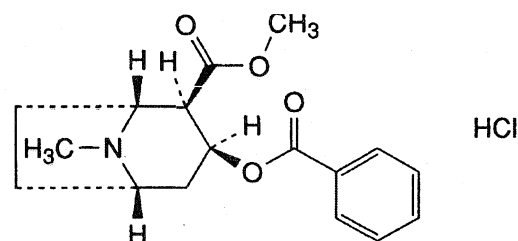
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg; 500 mg.

COCAIN HYDROCLORID

Cocaini hydrochloridum



$C_{17}H_{21}NO_4 \cdot HCl$

P.t.l: 339,8

Cocain hydroclorid là methyl (1R,2R,3S,5S)-3-(benzoyloxy)-8-methyl-8-azabicyclo[3.2.1]octan-2-carboxylat hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{17}H_{21}NO_4 \cdot HCl$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng. Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, khó tan trong methylen clorid. Điểm chảy của chế phẩm khoảng 197 °C (phân hủy).

Định tính

Nhóm I: B, D.

Nhóm II: A, C, D, E.

A. Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong dải sóng từ 220 nm đến

350 nm có hai cực đại hấp thụ ở bước sóng 233 nm và 273 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng 233 nm là 378 đến 402.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cocain hydroclorid chuẩn.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml nước. Thêm 1 ml dung dịch amoniac loãng (TT). Kết tủa trắng tạo thành. Cạo nhẹ thành ống bằng đũa thủy tinh. Tinh thể thu được sau khi rửa bằng nước và làm khô trong chân không có điểm chảy từ 96 °C đến 99 °C.

D. Chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của clorid (Phụ lục 8.1).

E. Chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của alcaloid (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid

Thêm 0,05 ml dung dịch đỏ methyl (TT) vào 10 ml dung dịch chế phẩm 2 % trong nước không có carbon dioxyl (TT). Dung dịch phải chuyển sang màu vàng khi thêm không quá 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 M (CD).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch chế phẩm 2,0 % trong nước phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ -70° đến -73° (tính theo chế phẩm đã làm khô) (Phụ lục 6.4).

Xác định trên dung dịch 2,5 % trong nước.

Chất hữu cơ lạ

Thêm 2 ml acid sulfuric đậm đặc (TT) vào 0,2 g chế phẩm và để yên 15 phút. Màu của dung dịch không được đậm hơn màu mẫu VN₅ (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Triethylamin - tetrahydrofuran - acetonitril - nước (0,5 : 100 : 430 : 479,5).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong dung dịch natri hydroxyd 0,01 M và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng dung dịch natri hydroxyd 0,01 M. Để yên trong 15 phút.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi end-capped octadecylsilyl silica gel (5 μm) dùng cho sắc ký với diện tích riêng bề mặt 335 m²/g, kích thước lỗ xốp là 10 nm và hàm lượng carbon 19,1 %.

Duy trì nhiệt độ cột ở 35 °C.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 216 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Thời gian lưu của cocain bằng khoảng 7,4 phút. Thời gian lưu tương đối của sản phẩm phân hủy của cocain so với thời gian lưu của cocain khoảng 0,7. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của cocain và pic của sản phẩm phân hủy ít nhất là 5,0. Diện tích của bất cứ pic nào rửa giải sau pic chính đều không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %) và tổng diện tích của các pic đó không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Loại bỏ các pic với diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Dùng lượng chế phẩm đã làm khô ở trên.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5,0 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT) và 50 ml ethanol 96 % (TT). Định lượng bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD). Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích thêm vào giữa 2 điểm uốn.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD) tương đương với 33,98 mg C₁₇H₂₂ClNO₄.

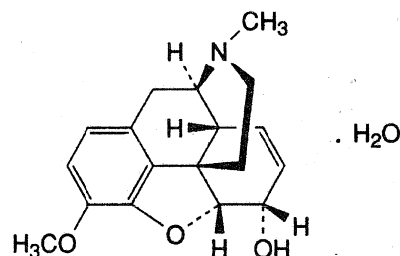
Bảo quản

Tránh ánh sáng.

CODEIN

Codeinum monohydricum

Codein monohydrat



C₁₈H₂₁NO₃·H₂O

P.t.l: 317,4

Codein là 4,5-epoxy-3-methoxy-17-methyl-7,8-didehydromorphinan-6-ol, monohydrat phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % C₁₈H₂₁NO₃, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu hoặc bột kết tinh trắng, không mùi. Dễ tan trong cloroform và ethanol 96 %, tan trong nước sôi và trong ether, khó tan trong nước.

Định tính

Có thể chọn một trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của codein chuẩn. Phép thử được tiến hành trên chế phẩm đã làm khô.

B. Thêm vào 2,0 ml dung dịch S 50 ml nước và 10 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), pha loãng thành 100,0 ml bằng nước. Đo phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên ở dải sóng từ 250 nm đến 350 nm. Dung dịch chỉ có duy nhất một cực đại hấp thụ ở 284 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại khoảng 50, tính theo chế phẩm đã làm khô.

C. Điểm chảy: 155 °C đến 159 °C (Phụ lục 6.7).

D. Thêm 1 ml acid sulfuric (TT) và 0,05 ml dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT) vào khoảng 10 mg chế phẩm và đun nóng trên cách thủy, sẽ xuất hiện màu xanh lam. Thêm 0,05 ml acid nitric (TT), màu chuyển sang đỏ.

E. Chế phẩm cho phản ứng của các alcaloid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.

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

pH

pH của dung dịch S phải lớn hơn 9 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ -142° đến -146°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong ethanol 96 % (TT) và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng dung môi để đo.

Morphin

Không được quá 0,13 %.

Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Thêm 2 ml dung dịch natri nitrit 1 % (TT), để yên 15 phút và thêm 3 ml dung dịch amoniac 6 M (TT). Màu của dung dịch thu được không được đậm hơn màu mẫu N₄ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Alcaloid lạ

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniacc đậm đặc - cyclohexan - ethanol (6 : 30 : 72).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong ethanol (TT) và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,5 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng ethanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và phun dung dịch kali iodobismuthat (TT). Trên sắc ký đồ, ngoài vết chính, bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử đều không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu (1) (1,5 %) và chỉ được một vết (ở phía trên vết chính) đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Mất khối lượng do làm khô

Từ 5,0 % đến 6,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 30 ml acid acetic khan (TT), thêm 20 ml dioxan (TT) và 4 giọt dung dịch tím tinh thể (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD). Song song làm mẫu trắng.
1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD) tương đương với 29,94 mg C₁₈H₂₁NO₃.

Bảo quản

Trong bình kín tránh ánh sáng.

Loại thuốc

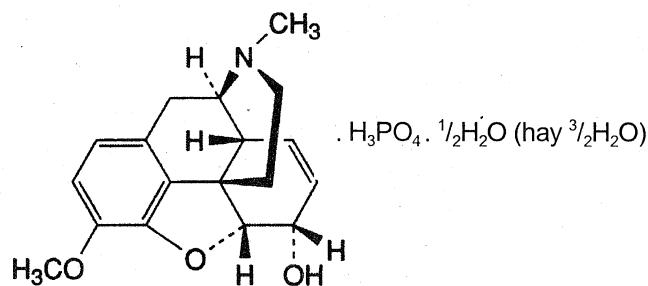
Giảm đau, chống ho, trị tiêu chảy.

Chế phẩm

Viên nén codein. Viên codein - terpin hydrat, viên codein - natri benzoat.

CODEIN PHOSPHAT

Codeini phosphas



C₁₈H₂₁NO₃·H₃PO₄ · 1/2H₂O (hemihydrat)

P.t.l: 406,4

C₁₈H₂₁NO₃·H₃PO₄ · 3/2H₂O (sesquihydrat)

P.t.l: 424,4

Codein phosphat là 4,5-epoxy-3-methoxy-17-methyl-7,8-didehydromorphinan-6-ol phosphat hemihydrat hoặc sesquihydrat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể nhỏ không màu hoặc bột kết tinh trắng, không mùi.

Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn một trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, E.

Nhóm II: A, C, D, E, F.

Dung dịch S: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng dung môi.

A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch S với nước thành 100,0 ml. Thêm 25 ml nước, 10 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M vào 25,0 ml dung dịch này và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước. Đo phổ từ ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên ở dải sóng từ 250 nm đến 350 nm. Dung dịch chỉ có duy nhất một cực đại hấp thụ ở 284 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại khoảng 38, tính theo chế phẩm đã làm khô.

B. Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong 4 ml nước, thêm 1 ml hỗn hợp đồng thể tích dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT) và nước. Để khơi mào kết tinh, có thể cọ vào thành ống nghiệm bằng một đầu thủy tinh và làm lạnh trong nước đá. Rửa tủa và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của codein.

C. Điểm chảy của tủa thu được ở phép thử B từ 155 °C đến 159 °C (Phụ lục 6.7).

D. Thêm 1 ml acid sulfuric (TT) và 2 giọt dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT) vào khoảng 10 mg chế phẩm và đun nóng trên cách thủy, sẽ xuất hiện màu xanh lam. Thêm 2 giọt acid nitric (TT), màu chuyển sang đỏ.

E. Dung dịch S cho phản ứng A của ion phosphat (Phụ lục 8.1).

F. Chế phẩm cho phản ứng của các alkaloid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S phải từ 4,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ -98° đến -102°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Pha loãng 5,0 ml dung dịch S với nước thành 10,0 ml để đo.

Morphin

Không được quá 0,13 %.

Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Thêm 2 ml dung dịch natri nitrit 1 % (TT), để yên 15 phút và thêm 3 ml dung dịch amoniac 6 M (TT). Màu của dung dịch thu được không được đậm hơn màu mẫu N₄ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Alcaloid lạ

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - cyclohexan - ethanol (6 : 30 : 72).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong một hỗn hợp ethanol - dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (1 : 4), rồi pha loãng thành 10 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,5 ml dung dịch thử với hỗn hợp ethanol - dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (1 : 4) thành 100 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử với hỗn hợp ethanol - dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (1 : 4) thành 100 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và phun dung dịch kali iodobismuthat (TT). Trên sắc ký đồ, ngoài vết chính, bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử, không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu (1) (1,5 %) và chỉ được một vết phụ (ở phía trên vết chính) đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu (2) (1 %).

Sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 5 ml dung dịch S pha loãng thành 20 ml bằng nước, lấy 15 ml dung dịch này để tiến hành thử.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 1,5 % đến 3,0 % đối với dạng hemihydrat và từ 5,0 % đến 7,5 % đối với dạng sesquihydrat (Phụ lục 9.6). (0,50 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,350 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml acid acetic khan (TT) và 20 ml dioxan (TT), dùng 0,05 ml dung dịch tím tinh thể (TT) làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD). Song song làm mẫu trắng.

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD) tương đương với 39,74 mg $C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4$.

Bảo quản

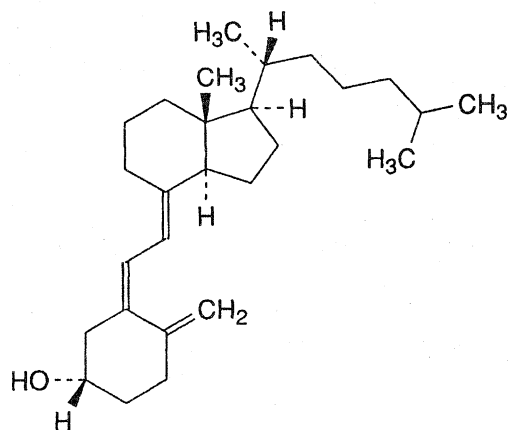
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Giảm đau, chống ho, trị tiêu chảy.

Chế phẩm

Viên nén, dung dịch uống, dung dịch tiêm.

COLECALCIFEROL***Cholecalciferolum*****Vitamin D₃**C₂₇H₄₄O

P.t.l: 384,6

Colecalciferol là (5*Z*,7*E*)-9,10 secocholesta-5,7,10(19)-trien-3β-ol, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % C₂₇H₄₄O.

Tính chất

Tinh thể trắng hoặc gần như trắng, dễ biến đổi khi tiếp xúc với không khí, nhiệt độ và ánh sáng. Trong dung dịch, tùy thuộc vào nhiệt độ và thời gian mà có thể xảy ra hiện tượng đồng phân hóa thuận nghịch thành pre-colecalciferol. Dễ tan trong cloroform, ethanol 96 % và ether, tan trong dầu béo; thực tế không tan trong nước. Dung dịch trong các dung môi bay hơi không vững bền, nên dùng ngay.

Định tính

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

Góc quay cực riêng

Từ +105° đến +112° (Phụ lục 6.4).

Hòa tan nhanh không làm nóng 0,200 g chế phẩm trong *ethanol không có aldehyd* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Góc quay cực của dung dịch được xác định trong thời gian không quá 30 phút kể từ lúc pha.

Định lượng

Tiến hành định lượng nhanh để tránh tác động của ánh sáng quang hóa và không khí.

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hexan - *n* - pentanol (997 : 3).

Dung dịch thử: Hòa tan (không được đun nóng) 10,0 mg chế phẩm trong 10,0 ml *toluen* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan (không được đun nóng) 10,0 mg colecalciferol chuẩn trong 10,0 ml *toluen* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml chuẩn colecalciferol dùng cho phép thử hiệu năng bằng pha

động thành 5,0 ml. Đun hồi lưu 45 phút trong cách thủy ở 90 °C, làm nguội.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh A (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Cách tiến hành:

Tiêm một thể tích thích hợp dung dịch đối chiếu (2). Ghi sắc ký đồ và điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic colecalciferol lớn hơn 50 % thang đo.

Tiêm lặp lại 6 lần dung dịch đối chiếu (2), ghi các sắc ký đồ. Thời gian lưu tương đối so với colecalciferol là khoảng 0,4 đối với pre-colecalciferol và 0,5 đối với *trans*-colecalciferol. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic colecalciferol không được lớn hơn 1 %. Độ phân giải giữa các pic của pre-colecalciferol và *trans*-colecalciferol không được nhỏ hơn 1,0. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ các thành phần và tốc độ dòng của pha động để đạt được độ phân giải trên.

Tiêm một thể tích thích hợp dung dịch đối chiếu (1), ghi sắc ký đồ và điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao pic colecalciferol phải lớn hơn 50 % thang đo. Tiêm một thể tích như vậy dung dịch thử và ghi sắc ký đồ.

Tính hàm lượng phần trăm colecalciferol bằng công thức:

$$\frac{100 \times m_2 \times S_1}{m_1 \times S_2}$$

Trong đó:

*m*₁ là khối lượng mẫu thử trong dung dịch thử tính bằng mg;

*m*₂ là khối lượng colecalciferol chuẩn trong dung dịch chuẩn (1) tính bằng mg;

*S*₁ là diện tích (hay chiều cao) pic colecalciferol trong sắc ký đồ của dung dịch thử;

*S*₂ là diện tích (hay chiều cao) pic colecalciferol trong sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (1).

Bảo quản

Colecalciferol được bảo quản trong bình kín chứa khí nitrogen, tránh ánh sáng và để ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C. Khi đã mở bình phải dùng ngay.

Loại thuốc

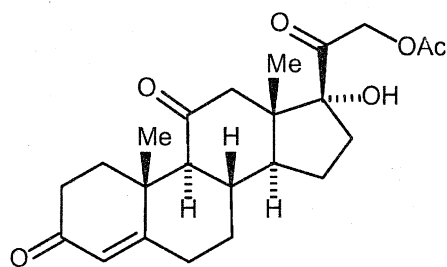
Vitamin.

Chế phẩm

Viên nén calci và colecalciferol.

Dung dịch tiêm, viên nén.

Thuốc uống dạng giọt chứa vitamin A, C và D.

CORTISON ACETAT***Cortisoni acetat***C₂₃H₃₀O₆

P.t.l: 402,5

Cortison acetat là 17,21-dihydroxypregn-4-en-3,11,20-trion 21-acetat, chứa từ 97,0 % đến 103,0 % C₂₃H₃₀O₆, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình, thực tế không tan trong nước, dễ tan trong methylen clorid, tan trong dioxan, hơi tan trong aceton, khó tan trong ethanol 96 %, ether và methanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cortison acetat chuẩn. Nếu phổ của chất chuẩn và chế phẩm được đo ở trạng thái rắn có sự khác nhau thì ghi lại phổ của dung dịch 5 % của chuẩn và chế phẩm trong *methylen clorid* (TT) trong cốc đo 0,2 mm.

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

Bản mỏng: Silica gel F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Trộn đều 1 thể tích hỗn hợp nước - methanol (1,2 : 8) với 1 thể tích hỗn hợp ether - methylen clorid (15 : 77).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp methanol - methylen clorid (1 : 9), pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg cortison acetat chuẩn trong hỗn hợp methanol - methylen clorid (1 : 9) rồi pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg hydrocortison acetat chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 10 ml bằng dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl của mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phun lên bản mỏng dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT). Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 10 phút hoặc đến khi xuất

hiện vết. Để nguội. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày và tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại 365 nm và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.

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

Bản mỏng: Silica gel F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Nước - methanol - ether - methylen clorid (1,2 : 8 : 15 : 77).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25 mg chế phẩm trong methanol (TT) bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Dung dịch này cũng được dùng để chuẩn bị dung dịch thử (2). Pha loãng 2 ml dung dịch trên thành 10 ml với methylen clorid (TT).

Dung dịch thử (2): Chuyển 2 ml dung dịch thu được trong quá trình chuẩn bị của dung dịch thử (1) vào ống nghiệm thủy tinh dung tích 15 ml có nút mài hoặc nắp bằng polytetrafluoroethylen, thêm 10 ml dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol (TT) và ngay lập tức cho một luồng khí nitrogen đi nhanh qua dung dịch trong 5 phút, đẩy nắp ống nghiệm. Đun nóng trong cách thủy ở 45 °C, tránh ánh sáng trong 2 giờ 30 phút. Để nguội.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg cortison acetat chuẩn trong methanol (TT) bằng cách làm nóng nhẹ và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Dung dịch này cũng được dùng để chuẩn bị dung dịch đối chiếu (2). Pha loãng 2 ml dung dịch trên thành 10 ml với methylen clorid (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Chuyển 2 ml dung dịch thu được trong quá trình chuẩn bị của dung dịch đối chiếu (1) vào một ống nghiệm thủy tinh có dung tích 15 ml có nút mài hoặc nắp bằng polytetra fluoroethylen, thêm 10 ml dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol (TT) và ngay lập tức cho một luồng khí nitrogen đi nhanh qua dung dịch trong 5 phút, đẩy nắp ống nghiệm. Đun nóng trong cách thủy ở 45 °C, tránh ánh sáng trong 2 giờ 30 phút. Để nguội.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên mỗi sắc ký đồ thu được của các dung dịch thử phải giống về vị trí, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng. Phun lên bản mỏng dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT). Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 10 phút hoặc tới khi vết xuất hiện. Để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trên mỗi sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban

ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng. Những vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có giá trị R_f thấp hơn so với giá trị R_f của vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

D. Thêm 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric* (TT) và lắc cho tan. Trong vòng 5 phút, màu vàng nhạt xuất hiện. Thêm vào dung dịch trên 10 ml *nước* và trộn đều. Màu bị biến mất và dung dịch vẫn trong.

E. Khoảng 10 mg chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của nhóm acetyl (Phụ lục 8.1).

Góc quay cực riêng

Từ $+211^\circ$ đến $+220^\circ$, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dioxan* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn đều 400 ml *acetonitril* (TT) với 550 ml *nước* và để cân bằng; điều chỉnh thể tích đến 1000 ml bằng *nước* và trộn đều lại.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg cortison acetat chuẩn và 2 mg hydrocortison acetat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

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

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *octadecyl silica gel* dùng cho sắc ký (5 μ m).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột với pha động ở tốc độ dòng 1 ml/min trong khoảng thời gian 30 phút.

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ không dưới 50 % của thang đo.

Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Với sắc ký đồ được ghi trong điều kiện đã mô tả ở trên: thời gian lưu của hydrocortison acetat khoảng 10 phút và của cortison acetat khoảng 12 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic tương ứng với hydrocortison acetat và cortison acetat ít nhất là 4,2; nếu cần thiết, điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động.

Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Tiến hành chạy sắc ký trong khoảng thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic chính. Trong sắc ký đồ của

dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào ngoài pic chính không được lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %); Tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %). Bỏ qua bất kỳ pic phụ nào có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 100 $^\circ$ C đến 105 $^\circ$ C).

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Hút 2,0 ml dung dịch trên, pha loãng thành 100,0 ml bằng *ethanol* 96 % (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng cực đại 237 nm. Tính hàm lượng $C_{23}H_{30}O_6$ theo A (1 %, 1 cm), với độ hấp thụ riêng là 395.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

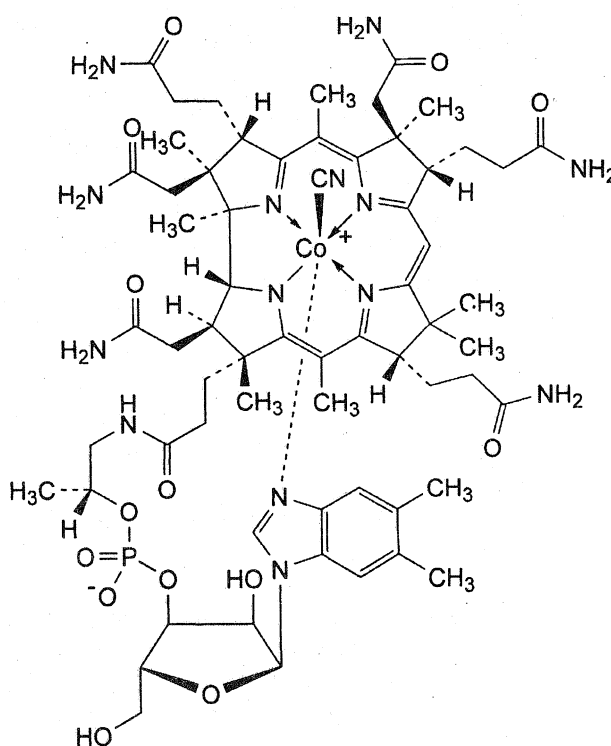
Thuốc chống viêm dạng steroid.

Chế phẩm

Viên nén.

CYANOCOBALAMIN

Cyanocobalaminum



$C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$

P.t.l: 1355,0

Cyanocobalamin là α -(5,6-dimethylbenzimidazol-1-yl)cobamid cyanid, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hoặc tinh thể màu đỏ đậm, hơi tan trong nước và trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong aceton và trong ether. Dạng khan rất hút ẩm.

Định tính

A. Hòa tan 2,5 mg chế phẩm trong nước và pha loãng đến 100,0 ml bằng cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên trong khoảng dải sóng từ 260 nm đến 610 nm có 3 cực đại hấp thụ ở 278 nm, 361 nm và 547 nm đến 559 nm. Tỷ số độ hấp thụ cực đại ở 361 nm so với độ hấp thụ cực đại ở 547 nm đến 559 nm từ 3,15 đến 3,45. Tỷ số độ hấp thụ cực đại ở 361 nm so với độ hấp thụ ở 278 nm từ 1,70 đến 1,90.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Quá trình sắc ký được tiến hành tránh ánh sáng.

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 10 % - methanol - dicloromethan (9 : 30 : 45).

Dung dịch thử: Hòa tan 2 mg chế phẩm trong 1 ml hỗn hợp đồng thể tích ethanol 96 % (TT) và nước.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 2 mg cyanocobalamin chuẩn trong 1 ml hỗn hợp đồng thể tích ethanol 96 % (TT) và nước.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình sắc ký không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 12 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn 26,5 thể tích methanol (TT) với 73,5 thể tích dung dịch dinatri hydrophosphat 1,0 %, điều chỉnh đến pH 3,5 bằng acid phosphoric (TT). Pha động này chỉ dùng được trong thời gian 2 ngày.

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Dùng trong vòng 1 giờ.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 3,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Dùng trong vòng 1 giờ.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Lấy 1,0 ml dung dịch này pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Dùng trong vòng 1 giờ.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 10 ml nước, làm nóng nếu cần thiết. Để nguội và thêm 5 ml dung dịch cloramin T 0,1 % và 0,5 ml dung dịch

acid hydrocloric 0,05 M (TT). Pha loãng thành 25 ml bằng nước. Lắc và để yên trong 5 phút. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng pha động và tiêm ngay.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4 mm), được nhồi octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 μ m).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 361 nm.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Tiêm riêng biệt các dung dịch trên và tiếp tục sắc ký trong khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của cyanocobalamin. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (3,0 %). Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2). Phép thử này chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải có 2 pic chính với độ phân giải giữa 2 pic này ít nhất là 2,5, và trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 1 pic chính mà tỷ số giữa chiều cao của pic này so với độ nhiều đường nền không nhỏ hơn 5.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

(20,00 mg; áp suất giảm; phospho pentoxyd; 100 °C đến 105 °C; 2 h).

Định lượng

Hòa tan 25,00 mg chế phẩm trong nước và pha loãng đến 1000,0 ml bằng cùng dung môi. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên ở bước sóng cực đại 361 nm. Tính hàm lượng $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 207 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 361 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc tiêm

THUỐC TIÊM CYANOCOBALAMIN

Injectio Cyanocobalaminii

Thuốc tiêm vitamin B₁₂.

Là dung dịch vô khuẩn của cyanocobalamin trong nước để pha thuốc tiêm, có thể chứa một số chất ổn định.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cyanocobalamin, $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, từ 95,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, màu từ hồng đến đỏ.

Định tính

Trong phần Định lượng, phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử có các hấp thụ cực đại ở 278 nm, 361 nm và ở khoảng 547 đến 559 nm. Tỷ số độ hấp thụ ở cực đại 361 nm so với độ hấp thụ ở cực đại khoảng 547nm đến 559 nm từ 3,15 đến 3,45. Tỷ số độ hấp thụ ở cực đại 361 nm so với độ hấp thụ ở cực đại 278 nm từ 1,70 đến 1,90.

pH

Từ 4,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Lấy chính xác một thể tích chế phẩm, pha loãng với nước để thu được dung dịch có nồng độ cyanocobalamin khoảng 25 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 361 nm, trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là nước. Tính hàm lượng cyanocobalamin, $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, trong thuốc tiêm theo A (1 %; 1 cm). Lấy 207 là giá trị A (1 %; 1 cm) ở bước sóng 361 nm.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

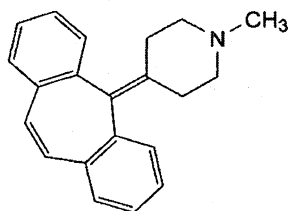
Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

200 µg/ml; 500 µg/ml.

CYPROHEPTADIN HYDROCLORID

Cyproheptadini hydrochloridum



· HCl · 1½ H₂O

$C_{21}H_{21}N \cdot HCl \cdot 3/2H_2O$

P.t.l: 350,9

Cyproheptadin hydroclorid là 4-(5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5-yliden)-1-methylpiperidin hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{21}H_{21}N \cdot HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc vàng nhạt, ít tan trong nước, dễ tan trong methanol, ít tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, D.

Nhóm II: A, C, D.

A. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong ethanol 96 % (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng ethanol 96 % (TT). Ghi phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 320 nm. Dung dịch có cực đại hấp thụ ở bước sóng 286 nm. A (1 %, 1 cm) ở 286 nm từ 335 đến 365, tính theo chế phẩm khan.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm đo trong parafin lỏng (TT) phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cyproheptadin hydroclorid chuẩn với cách chuẩn bị tương tự.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Hệ dung môi khai triển: Diethylamin - ether - cyclohexan (5 : 20 : 75)

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg cyproheptadin hydroclorid chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg imipramin hydroclorid chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 2 ml bằng dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách rõ ràng.

D. Dung dịch chế phẩm bão hòa trong nước cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Thêm 0,1 ml dung dịch đỏ methyl (TT). Dung dịch sẽ chuyển màu khi thêm không quá 0,15 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ).

Tạp chất liên quan

Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Hệ dung môi khai triển: Methanol - methylen clorid (10 : 90)

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 5 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg dibenzocyclohepten chuẩn trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 50 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 10 ml bằng hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9). Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 10 ml bằng hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun *dung dịch acid sulfuric trong ethanol 96 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 30 phút và soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm khi bản mỏng còn nóng. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, bất kỳ vết phụ nào tương ứng với dibenzocyclohepten không được đậm màu hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %); bất kỳ vết phụ nào, ngoài vết chính và vết tương ứng với dibenzocyclohepten cũng không được đậm màu hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Nước

Từ 7,0 % đến 9,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)* và 50 ml *ethanol (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích được thêm vào giữa hai điểm uốn.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* tương đương với 32,39 mg $C_{21}H_{21}N.HCl$.

Bảo quản

Bảo quản trong chai nút kín, tránh ánh sáng.

Nhãn

Phải quy định rõ thời hạn sử dụng và điều kiện bảo quản.

Công dụng

Kháng histamin H_1 .

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN CYPROHEPTADIN HYDROCLORID

Tabellae Cyproheptadini hydrochloridi

Là viên nén chứa cyproheptadin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cyproheptadin hydroclorid, $C_{21}H_{21}N.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg cyproheptadin hydroclorid khan, thêm 10 ml *nước* và 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*. Chiết với 10 ml *dicloromethan (TT)*, lọc qua *natri sulfat khan (TT)* đã được làm ẩm bằng *dicloromethan (TT)*. Bốc hơi dịch lọc đến khô. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cần thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của cyproheptadin hoặc với phổ hồng ngoại của cyproheptadin hydroclorid chuẩn tiến hành song song trong cùng điều kiện.

B. Trong mục thử Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3).

C. Chiết một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg cyproheptadin hydroclorid khan trong 7 ml *nước*, lọc, thêm vào dịch lọc 0,3 ml *dung dịch amoniac 5 M (TT)*, lọc một lần nữa. Dịch lọc thu được phải cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng bằng môi trường hòa tan nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở cực đại 285 nm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tiến hành so sánh với độ hấp thụ của dung dịch cyproheptadin hydroclorid đối chiếu có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % lượng cyproheptadin hydroclorid, $C_{21}H_{21}N.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel 60.

Dung môi khai triển: *Methanol - dicloromethan* (10 : 90).

Dung dịch thử (1): Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với 50 mg cyproheptadin hydroclorid khan trong 5 ml dung môi khai triển, lắc trên máy lắc trong 10 phút, lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch dibenzocycloheptan chuẩn 0,002 % trong dung môi khai triển.

Dung dịch thử (2): Lấy 1 thể tích dung dịch thử (1) pha loãng thành 10 thể tích với dung môi khai triển.

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 1 thể tích dung dịch thử (1) pha loãng thành 100 thể tích với dung môi khai triển. Pha loãng tiếp 10 lần với dung môi khai triển.

Dung dịch đối chiếu (3): Dung dịch cyproheptadin hydroclorid chuẩn 0,1 % trong dung môi khai triển.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 30 phút. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.

Bất kỳ vết nào tương ứng với dibenzocycloheptan trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1) không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %). Bất kỳ vết phụ nào khác trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1) không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1,5 mg cyproheptadin hydroclorid khan trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lọc nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này ở bước sóng cực đại 286 nm. Tính hàm lượng cypro-heptadin hydroclorid, $C_{21}H_{21}N.HCl$, trong chế phẩm theo A (1 %, 1 cm). Lấy 355 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 286 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

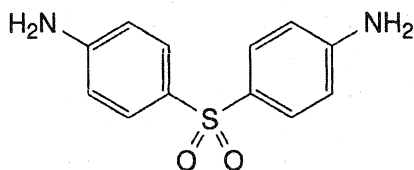
Thuốc kháng histamin H_1 .

Hàm lượng thường dùng

4 mg.

DAPSON

Dapsonum



$C_{12}H_{12}N_2O_2S$

P.t.l: 248,3

Dapson là 4,4'-sulphonyldianilin, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{12}N_2O_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc trắng hơi vàng, không mùi. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong acetone, dễ tan trong các dung dịch acid vô cơ loãng, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với *methanol (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm của dung dịch này có hai cực đại hấp thụ ở bước sóng 260 nm và 295 nm. A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 260 nm từ 700 đến 760 và ở bước sóng 295 nm từ 1150 đến 1250.

B. Trong mục thử "Tập chất liên quan", vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

C. Điểm chảy: 175 °C đến 181 °C (Phụ lục 6.7).

Tập chất liên quan

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Amoniac đậm đặc - methanol - ethyl acetat - heptan* (1 : 6 : 20 : 20).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Lấy 1 ml dung dịch thử (1) pha loãng thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg dapson chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 1 ml dung dịch thử (2) pha loãng thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (3): Lấy 2 ml dung dịch đối chiếu (2) pha loãng thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl dung dịch thử (2), 1 µl dung dịch đối chiếu (1), 10 µl dung dịch thử (1), 10 µl dung dịch đối chiếu (2), 10 µl dung dịch đối chiếu (3). Triển khai sắc ký trong bình không bão hòa tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun lần lượt *dung dịch natri nitrit 0,5 %* trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N* và trên bản sắc ký đang ướt, phun tiếp *dung dịch naphthylethylendiamin dihydroclorid 0,1 %*. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Bất kỳ vết nào, trừ vết chính, trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %) và không quá 2 vết như vậy đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 50 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)*, thêm 3,0 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 12,42 mg $C_{22}H_{29}FO_5$.

Bảo quản

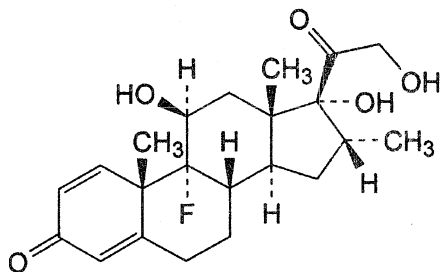
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc điều trị phong.

Chế phẩm

Viên nén.

DEXAMETHASON**Dexamethasonum**

$C_{22}H_{29}FO_5$

P.t.l: 392,5

Dexamethason là 9-fluoro-11β,17,21-trihydroxy-16α-methylpregna-1,4-dien-3,20-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{22}H_{29}FO_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng.

Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong ethanol, khó tan trong methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C.

Nhóm II: A, C, D, E.

A. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 2,0 ml dung dịch này cho vào ống nghiệm thủy tinh có nút mài, thêm 10,0 ml *dung dịch phenylhydrazin - acid*

sulfuric (TT), trộn đều và đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 20 phút. Làm lạnh ngay. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được đo ở bước sóng cực đại 419 nm không được dưới 0,4. Pha mẫu trắng trong cùng điều kiện, thay 2 ml dung dịch chế phẩm bằng 2 ml *ethanol (TT)*.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của dexamethason chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Butanol được bão hòa nước - toluen - ether (5 : 10 : 85).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong một hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9), rồi pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg dexamethason chuẩn trong một hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9), rồi pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg betamethason chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung dịch này.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và kiểm tra dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí và kích thước với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong khoảng 10 phút hoặc đến khi vết xuất hiện. Để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm và kích thước với vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết, tuy vậy 2 vết này có thể không tách rời nhau hoàn toàn.

D. Thêm khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc để hòa tan. Trong vòng 5 phút, một màu nâu đỏ nhạt xuất hiện. Cho dung dịch trên vào 10 ml *nước* và trộn đều. Màu biến mất.

E. Trộn khoảng 5 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng (TT)* và nung trong chén nung đến khi thu được cặn gần như trắng hoàn toàn (thường dưới 5 phút). Để nguội, thêm 1 ml *nước*, 0,05 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* và khoảng 1 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)* để làm mất màu dung dịch. Lọc. Thêm 1 ml dịch lọc vào một hỗn hợp mới pha gồm 0,1 ml *dung dịch alizarin S (TT)* và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat (TT)*. Trộn đều và để yên 5 phút,

so sánh màu của dung dịch thu được với màu của một mẫu trắng được chuẩn bị trong cùng điều kiện. Dung dịch thử có màu vàng và dung dịch mẫu trắng có màu đỏ.

Góc quay cực riêng

Từ +75° đến +80°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dioxan* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi để đo.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Trong bình định mức 1000 ml, trộn 250 ml *acetonitril* (TT) với 700 ml nước và để cho cân bằng, thêm nước đến vạch và trộn đều.

Pha động B: *Acetonitril* (TT).

Dung dịch thử: Cân 25,0 mg chế phẩm vào bình định mức 10 ml, thêm 1,5 ml *acetonitril* (TT) và 5 ml pha động A, siêu âm cho đến khi chế phẩm tan hoàn toàn, thêm pha động A tới vạch, lắc đều.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2 mg dexamethason chuẩn và 2 mg methyl prednisolon chuẩn trong pha động A để được 100,0 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký 5 μm).

Nhiệt độ cột được duy trì ở 45 °C.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 2,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành chạy sắc ký theo chương trình ở bảng sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Tiến hành
0	100	0	Đẳng dòng
15	100 → 0	0 → 100	Bắt đầu gradient tuyến tính
40	0	100	Kết thúc quá trình chạy sắc ký, quay về 100 % pha động A
41	100	0	Bắt đầu cân bằng với pha động A
46	100	0	Kết thúc cân bằng, bắt đầu quá trình chạy sắc ký tiếp theo

Cân bằng cột ít nhất trong 30 phút với pha động B và sau đó với pha động A trong 5 phút. Đối với các lần

chạy sắc ký tiếp theo dùng điều kiện như mô tả trong bảng trên từ phút 40,0 đến phút 46,0.

Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu ít nhất bằng 50 % của thang đo.

Tiêm dung dịch phân giải. Trong điều kiện sắc ký đã mô tả, thời gian lưu của methyl prednisolon khoảng 11,5 phút và của dexamethason khoảng 13 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic methyl prednisolon và pic dexamethason ít nhất là 2,8. Nếu cần thiết, điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động A.

Tiêm mẫu trắng là pha động A, dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Ghi sắc ký đồ của dung dịch thử trong thời gian gấp hai lần thời gian lưu của pic chính. Bất kỳ pic phụ nào của dung dịch thử không được có diện tích lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (0,5 %), tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (1,0 %). Bỏ qua pic của mẫu trắng và bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch trên thành 100,0 ml với *ethanol* 96 % (TT) và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 238,5 nm. Tính hàm lượng C₂₂H₂₉FO₅ theo A (1 %, 1 cm), lấy 394 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 238,5 nm.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Corticosteroid.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN DEXAMETHASON

Tabellae Dexamethasoni

Là viên nén chứa dexamethason.

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

Hàm lượng của dexamethason, C₂₂H₂₉FO₅, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng hay trắng ngà, không mùi.

Định tính

Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng khoảng 20 mg dexamethason với 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, thêm 50 ml *dicloromethan (TT)* và lắc siêu âm trong 20 phút, lọc và bay hơi dịch lọc. Sấy cán ở 105 °C trong 2 giờ. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cán thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của dexamethason.

Độ đồng đều hàm lượng

Phải đáp ứng yêu cầu Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2). Phương pháp thử thực hiện giống như phần Định lượng.

Dung dịch thử: Nghiền một viên, hòa tan trong một lượng vừa đủ *methanol 50 % (tt/tt)* để được dung dịch có chứa 0,0025 % dexamethason, lắc trong 10 phút và lọc.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch dexamethason chuẩn 0,0025 % trong *methanol 50 % (tt/tt)*.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol - nước (47 : 53)*.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch dexamethason chuẩn 0,0125 % trong *methanol 50 % (tt/tt)*.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 2,5 mg dexamethason. Thêm chính xác 20 ml *methanol 50 % (tt/tt)*, lắc kỹ để hòa tan và lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 238 nm.

Tốc độ dòng: 1,4 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

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

Tính hàm lượng dexamethason, $C_{22}H_{29}FO_5$, có trong viên dựa vào diện tích các pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{22}H_{29}FO_5$ trong dexamethason chuẩn.

Bảo quản

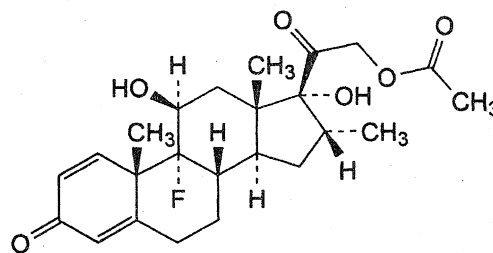
Đựng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng, để nơi khô mát.

Loại thuốc

Glucocorticoid.

Hàm lượng thường dùng

0,5 mg.

DEXAMETHASON ACETAT***Dexamethasoni acetat***

$C_{24}H_{31}FO_6$

P.t.l: 434,5

Dexamethason acetat là 9-fluoro-11β,17-dihydroxy-16α-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl acetat, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{24}H_{31}FO_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình. Dễ tan trong ethanol 96 % và aceton, khó tan trong methylen clorid, thực tế không tan trong nước.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C.

Nhóm II: A, C, D, E, F.

A. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 2,0 ml dung dịch này cho vào ống nghiệm thủy tinh có nút mài, thêm 10,0 ml *dung dịch phenylhydrazin - acid sulfuric (TT)*, trộn đều và đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 20 phút. Làm lạnh ngay. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được đo ở bước sóng cực đại 419 nm không được dưới 0,35.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của dexamethason acetat chuẩn. Nếu các phổ thu được của chế phẩm và của chất chuẩn ở dạng rắn khác nhau, đo thêm phổ ở dạng lỏng: dùng dung dịch bão hòa (nồng độ khoảng 3 %) của chế phẩm và của chất chuẩn trong *cloroform (TT)* với cốc đo dày 0,2 mm.

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

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Nước - methanol - ether - methylen clorid (1,2 : 8 : 15 : 77)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 10 ml hỗn hợp *methanol - methylen clorid (1 : 9)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg dexamethason acetat chuẩn trong 20 ml hỗn hợp *methanol - methylen clorid (1 : 9)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg cortison acetat chuẩn trong 10 ml dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không

khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính của dung dịch thử phải tương đương về vị trí và kích thước với vết chính của dung dịch đối chiếu (1). Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong khoảng 10 phút hoặc đến khi vết xuất hiện. Để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm, và kích thước với vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách riêng biệt rõ.

D. Thêm khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc để hòa tan. Trong vòng 5 phút, màu nâu đỏ nhạt xuất hiện. Cho dung dịch trên vào 10 ml *nước* và trộn đều. Màu biến mất và dung dịch vẫn trong.

E. Trộn khoảng 5 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng (TT)* và nung trong chén nung đến khi thu được cặn gần như trắng hoàn toàn (thường dưới 5 phút). Để nguội, thêm 1 ml *nước*, 0,05 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* và khoảng 1 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)* để làm mất màu dung dịch. Lọc. Thêm 1 ml dịch lọc vào một hỗn hợp mới pha gồm 0,1 ml *dung dịch alizarin S (TT)* và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat (TT)*. Trộn đều và để yên 5 phút, so sánh màu của dung dịch thu được với màu của một mẫu trắng được pha chế trong cùng điều kiện. Dung dịch thử có màu vàng và dung dịch mẫu trắng có màu đỏ.

F. Khoảng 10 mg chế phẩm cho phản ứng của nhóm acetyl (Phụ lục 8.1).

Góc quay cực riêng

Từ +84° đến +90°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 25,0 ml *dioxan (TT)* để đo.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn 380 ml *acetonitril (TT)* với 550 ml *nước* và để ổn định; pha loãng với *nước* thành 1000 ml và trộn đều.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong khoảng 4 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2 mg dexamethason acetat chuẩn và 2 mg betamethason acetat chuẩn trong 100,0 ml pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký, 5 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột với pha động khoảng 30 phút.

Tiêm dung dịch đối chiếu và điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ thu được không dưới 50 % thang đo.

Tiêm dung dịch phân giải. Khi sắc ký đồ được ghi trong các điều kiện nêu trên, thời gian lưu của betamethason acetat khoảng 19 phút và dexamethason acetat khoảng 22 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic betamethason acetat và dexamethason acetat ít nhất là 3,3; nếu cần, điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động.

Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký dung dịch thử trong khoảng thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của pic chính. Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (0,5 %); tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1,0 %). Bỏ qua bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g: áp suất giảm; phosphor pentoxyd; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch trên với *ethanol 96 % (TT)* thành 100,0 ml. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 238,5 nm. Tính hàm lượng $C_{24}H_{31}FO_6$ theo A (1 %, 1 cm) lấy 357 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 238,5 nm.

Bảo quản

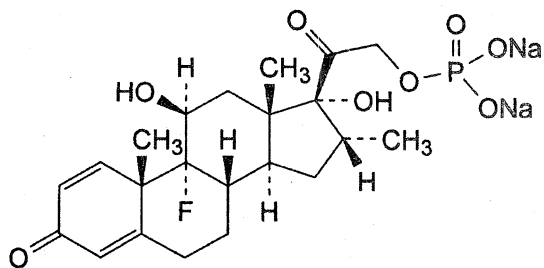
Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Corticosteroid.

Chế phẩm

Viên nén.

DEXAMETHASON NATRI PHOSPHAT***Dexamethasoni natrii phosphas*** $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$

P.t.l: 516,4

Dexamethason natri phosphat là 9-fluoro-11 β ,17-dihydroxy-16 α -methyl-3, 20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl natri phosphat, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$, tính theo chế phẩm khan và không có ethanol.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng đa hình, rất dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether và methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C.

Nhóm II: A, C, D, E, F.

A. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với *ethanol* (TT). Lấy 2,0 ml dung dịch này cho vào ống nghiệm thủy tinh tròn có nút mài, thêm 10,0 ml *dung dịch phenylhydrazin - acid sulfuric* (TT), trộn đều và đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 20 phút. Làm lạnh ngay. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được đo ở bước sóng cực đại 419 nm không được dưới 0,20.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của dexamethason natri phosphat chuẩn. Nếu phổ thu được của mẫu thử và mẫu chuẩn ở trạng thái rắn không giống nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong một thể tích tối thiểu *ethanol* 96 % (TT), làm bay hơi đến khô trên cách thủy và dùng những cân thu được ghi lại phổ mới.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - *nước* - *butanol* (2 : 2 : 6).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 10 ml *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg dexamethason natri phosphat chuẩn trong 20 ml *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg prednisolon natri phosphat chuẩn trong 10 ml dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, vết chính của dung dịch thử phải tương tự về vị trí và kích thước với vết chính của dung dịch đối chiếu (1). Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol* (TT). Sấy bản mỏng ở 120 °C trong khoảng 10 phút hoặc đến khi vết xuất hiện. Để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm, và kích thước với vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết, tuy nhiên 2 vết này có thể không tách rời nhau hoàn toàn.

D. Thêm khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric* (TT) và lắc để hòa tan. Trong vòng 5 phút, một màu nâu vàng nhạt xuất hiện. Cho dung dịch trên vào 10 ml *nước* và trộn đều. Màu nhạt dần và dung dịch vẫn trong.

E. Trộn khoảng 5 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng* (TT) và nung trong chén nung đến khi thu được cân gần như trắng hoàn toàn (thường dưới 5 phút). Để nguội, thêm 1 ml *nước*, 0,05 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT) và khoảng 1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng* (TT) để làm mất màu dung dịch. Lọc. Thêm 1 ml dịch lọc vào một hỗn hợp mới pha gồm 0,1 ml *dung dịch alizarin S* (TT) và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat* (TT). Trộn đều và để yên 5 phút, so sánh màu của dung dịch thu được với màu của một mẫu trắng được chuẩn bị trong cùng điều kiện. Dung dịch thử có màu vàng và dung dịch mẫu trắng có màu đỏ.

F. Thêm vào 40 mg chế phẩm 2 ml *acid sulfuric* (TT) và đun nhẹ cho đến khi khói trắng bay lên, thêm từng giọt *acid nitric* (TT), tiếp tục đun nóng cho đến khi dung dịch gần như không màu, làm nguội. Thêm 2 ml *nước*, đun cho đến khi khói trắng bay lên một lần nữa, làm nguội, thêm 10 ml *nước* và trung tính hóa với *giấy quỳ đỏ* (TT) bằng *dung dịch amoniac loãng* (TT). Dung dịch thu được cho phản ứng A của ion natri và phản ứng B của ion phosphat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu N₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 5 ml với *nước* không có carbon dioxyd (TT). pH của dung dịch thu được phải từ 7,5 đến 9,5. (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +75° đến +83°, tính theo chế phẩm khan và không chứa ethanol (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 25,0 ml nước để đo.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trong một bình nón 250 ml, cân 1,360 g *kali dihydrophosphat* (TT) và 0,600 g *hexylamin* (TT), trộn đều và để yên trong 10 phút, sau đó hòa tan trong 182,5 ml nước; thêm 67,5 ml *acetonitril* (TT), trộn đều.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2 mg dexamethason natri phosphat chuẩn và 2 mg betamethason natri phosphat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký, 5 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột với pha động trong khoảng 45 phút.

Tiêm dung dịch đối chiếu và điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ thu được ít nhất bằng 50 % thang đo.

Tiêm dung dịch phân giải. Khi sắc ký đồ được ghi trong các điều kiện nêu trên, thời gian lưu của betamethason natri phosphat khoảng 12,5 phút và dexamethason natri phosphat khoảng 14 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic betamethason natri phosphat và dexamethason natri phosphat ít nhất là 2,2. Nếu cần, điều chỉnh nồng độ acetonitril hoặc tăng nồng độ nước trong pha động.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký dung dịch thử trong khoảng thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic chính. Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử: diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (0,5 %); tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1,0 %). Bỏ qua bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Phosphat vô cơ

Không được quá 1 %.

Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 100 ml nước. Thêm vào 10 ml dung dịch này 5 ml *thuốc thử molybdo-vanadic* (TT), trộn đều và để yên trong 5 phút. Màu vàng của dung dịch không được đậm hơn màu vàng của mẫu đối chiếu được chuẩn bị đồng thời và theo cách tương tự với 10 ml *dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu* (TT).

Ethanol

Không được quá 3,0 % (kl/kl).

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Pha loãng 1,0 ml *n-propanol* (TT) với nước thành 100,0 ml.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng với nước thành 10,0 ml.

Dung dịch chuẩn: Pha loãng 1,0 g *ethanol* (TT) với nước thành 100,0 ml. Lấy 2,0 ml dung dịch này, thêm vào 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng với nước thành 10,0 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột (1 m × 3,2 mm) được nhồi ethylvinylbenzen-divinylbenzen copolymer (150 μm đến 180 μm).

Khí mang là nitrogen dùng cho sắc ký khí, lưu lượng 30 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Duy trì nhiệt độ cột ở 150 °C, nhiệt độ của buồng tiêm 250 °C và nhiệt độ detector 280 °C.

Thể tích tiêm: 2 μl.

Ethanol và nước

Xác định hàm lượng nước (Phụ lục 10.3), dùng 0,200 g chế phẩm. Tổng hàm lượng phần trăm của ethanol được tìm thấy ở phép thử ethanol và hàm lượng phần trăm nước không được quá 13,0 % (kl/kl).

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 250,0 ml với nước. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng cực đại 241,5 nm. Tính hàm lượng $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 303 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 241,5 nm.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt.

THUỐC TIÊM DEXAMETHASON***Injectio Dexamethasoni***

Là dung dịch vô khuẩn của dexamethason natri phosphat trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm có thể chứa các chất ổn định.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng dexamethason phosphat, $C_{22}H_{30}FO_8P$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel F₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Butanol - acid acetic băng - nước* (60 : 20 : 20).

Dung dịch thử: Pha loãng dung dịch chế phẩm, nếu cần, với *methanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ dexamethason phosphat 0,1 % trong *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch dexamethason phosphat 0,1 % trong *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa dexamethason phosphat 0,1 % và prednisolon natri phosphat 0,1 % trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 phút, phun lên bản mỏng còn đang nóng dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT) và sấy ở 120 °C trong 10 phút. Để nguội, quan sát bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải tương ứng với vết của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, kích thước, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại 365 nm. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 2 vết, tuy nhiên 2 vết này có thể không tách nhau hoàn toàn.

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

pH

Từ 7,0 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).

Nội độc tố vi khuẩn

Tiến hành theo chuyên luận “Phép thử nội độc tố vi khuẩn” (Phụ lục 13.2).

Không được quá 31,3 EU/mg dexamethason phosphat.

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch kali dihydro phosphat 0,01 M trong hỗn hợp đồng lượng của *methanol* (TT) với nước.

Dung dịch chuẩn (được pha chế ngay khi dùng): Dung dịch dexamethason natri phosphat chuẩn trong pha động có nồng độ chính xác khoảng 80 μ g/ml, tính theo dexamethason phosphat.

Dung dịch thử: Lấy chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 8 mg dexamethason phosphat pha loãng thành 100 ml bằng pha động và trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m), cột Lichrosorb RP 18 là thích hợp.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,6 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành: Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng dexamethason phosphat, $C_{22}H_{30}FO_8P$, trong 1 ml chế phẩm dựa vào các diện tích pic dexamethason natri phosphat thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng của dexamethason phosphat, $C_{22}H_{30}FO_8P$, trong dexamethason natri phosphat chuẩn.

Lấy 472,45/516,41 là hệ số chuyển đổi từ dexamethason natri phosphat sang dexamethason phosphat.

Bảo quản

Để nơi mát, trong điều kiện tránh ánh sáng.

Loại thuốc

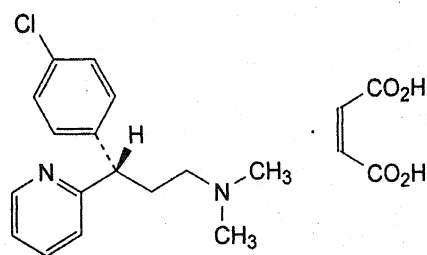
Glucocorticoid.

Hàm lượng thường dùng

4 mg/2 ml và 4 mg/1 ml (tính theo dexamethason phosphat).

DEXCLORPHENIRAMIN MALEAT

Dexclorpheniramini maleas



$C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$

P.t.l: 390,9

Dexclorpheniramin maleat là (3*S*)-3-(4-clorophenyl)-*N,N*-dimethyl-3-(pyridin-2-yl)propan-1-amin (*Z*)-butandioat, phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, methanol và methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn 1 trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại của dexchlorpheniramin maleat chuẩn.

B. Điểm chảy: từ 110 °C đến 115 °C (Phụ lục 6.7).

C. Phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Nước - acid formic khan - methanol - di-isopropyl ether (3 : 7 : 20 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 56 mg acid maleic (TT) trong methanol (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành:

Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho 2 vết tách rõ ràng, vết phía trên có vị trí và kích thước tương ứng với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

E. Cân 0,15 g chế phẩm vào chén sứ, thêm 0,5 g natri carbonat khan (TT). Đốt khoảng 10 phút, để nguội. Hòa tan cân trong 10 ml dung dịch acid nitric loãng (TT), lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml nước. Dung dịch thu được phải cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 20,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong 20 ml nước. pH của dung dịch thu được phải từ 4,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +22° đến +23°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S để thử.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 1,0 ml methylen clorid (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5,0 mg brompheniramin maleat chuẩn trong 0,5 ml methylen clorid (TT) và thêm 0,5 ml dung dịch thử. Pha loãng 0,5 ml dung

dịch thu được thành 50,0 ml bằng methylen clorid (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (2,3 m × 2 mm) được nhồi diatomit đã silan hóa dùng cho sắc ký khí (135 µm đến 175 µm) đã rửa acid-bazơ và tẩm 3 % (kl/kl) hỗn hợp gồm 50 % poly-(dimethyl)siloxan và 50 % poly(diphenyl)-siloxan (TT).

Khí mang là nitrogen dùng cho sắc ký khí (TT), lưu lượng 20 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ: Cột ở 205 °C, buồng tiêm và detector ở 250 °C.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu độ phân giải giữa pic dexchlorpheniramin và pic brompheniramin ít nhất là 1,5. Tiêm dung dịch thử, tiến hành sắc ký với thời gian ít nhất gấp 2,5 lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, không được có pic nào, trừ pic chính, có diện tích lớn hơn 0,8 lần diện tích pic dexchlorpheniramin của dung dịch đối chiếu (0,4 %); tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 2 lần diện tích pic dexchlorpheniramin của dung dịch đối chiếu (1 %).

Tạp chất đồng phân đối quang

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Diethylamin - isopropanol - hexan (3 : 20 : 980).

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 3 ml nước, thêm vài giọt amoniac đậm đặc (TT) đến khi dung dịch có phản ứng kiềm, thêm 5 ml methylen clorid (TT), lắc, để cho tách lớp. Bốc hơi, lớp methylen clorid ở dưới trên cách thủy đến khi thu được cặn dầu. Hòa tan cặn dầu trong isopropanol (TT) và pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg dexchlorpheniramin maleat chuẩn trong 3 ml nước và tiếp tục tiến hành như dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg clorpheniramin maleat chuẩn trong 3 ml nước và tiếp tục tiến hành như dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50 ml bằng isopropanol (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4,6 mm) được nhồi dẫn chất amylos của silica gel dùng cho sắc ký.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Với các điều kiện sắc ký trên, pic đồng phân (S) xuất hiện đầu tiên.

Tiêm các dung dịch trên. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) độ phân giải giữa pic đồng phân đối quang (R) và pic đồng phân đối quang (S) ít nhất là 1,5. Thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) phải là thời gian lưu của đồng phân đối quang (S). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: diện tích của pic tương ứng với đồng phân đối quang (R) không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (2 %) và diện tích của bất kỳ pic nào, ngoài pic chính và pic đồng phân đối quang (R), không được lớn hơn 0,25 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm, tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 65 °C; 4 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 25 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 M (CD)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 M (CD)* tương đương với 19,54 mg $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$.

Bảo quản

Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

VIÊN NÉN DEXCLORPHENIRAMIN

Tabellae Dexchlorpheniramini

Là viên nén chứa dexchlorpheniramin maleat.

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

Hàm lượng dexchlorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dung dịch acid acetic 1 M - methanol - ethyl acetat (20 : 30 : 50).

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương đương khoảng 5 mg dexchlorpheniramin maleat với *cloroform (TT)*, lọc, bay hơi dịch lọc đến cạn. Hòa tan cạn trong 1 ml *cloroform (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch dexchlorpheniramin maleat chuẩn 0,5 % trong *cloroform (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Sau đó, phun *dung dịch kali iodobismuthat (TT)* lên bản sắc ký. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Lắc kỹ một lượng bột viên tương đương khoảng 150 mg dexchlorpheniramin maleat với 100 ml *dung dịch acid acetic 1 M (TT)* trong 10 phút, lọc qua phễu lọc thủy tinh, chỉnh pH của dịch lọc đến pH 11 bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, chiết dung dịch này 6 lần, mỗi lần 100 ml *hexan (TT)*. Tập trung các dịch chiết hexan và bốc hơi trên cách thủy đến cạn. Chuyển hết lượng cạn vào một ống nghiệm thủy tinh có vạch, hòa tan cạn trong *dimethylformamid (TT)* đến vừa đủ 15 ml, lắc đều, ly tâm nếu cần. Góc quay cực (Phụ lục 6.4) của dung dịch này, trong ống đo 100 mm, phải từ +0,24° đến +0,35°, dùng *dimethylformamid (TT)* làm mẫu trắng (phân biệt với clorpheniramin maleat).

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Diethylamin - cloroform - cyclohexan (10 : 40 : 50)

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương đương khoảng 50 mg dexchlorpheniramin maleat với *cloroform (TT)*, lọc, bay hơi dịch lọc đến cạn. Hòa tan cạn trong 1 ml *cloroform (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử với *cloroform (TT)* thành 500 thể tích.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Loại bỏ các vết tại điểm xuất phát.

Định lượng

Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 40 mg dexchlorpheniramin maleat chuẩn vào bình định mức dung

tích 100 ml, thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc kỹ. Lấy chính xác 10,0 ml dung dịch này cho vào bình gạn, điều chỉnh đến pH 11 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, để nguội đến nhiệt độ phòng. Chiết 2 lần, mỗi lần với 50 ml *hexan (TT)* và lắc kỹ trong 2 phút. Tập trung dịch chiết hexan vào bình gạn thứ 2. Chiết dịch chiết hexan 2 lần, mỗi lần với 40 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tập trung dịch chiết acid vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến vạch, lắc kỹ. Lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu, dịch lọc thu được là dung dịch chuẩn (40 µg/ml).

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương đương khoảng 8 mg dexchlorpheniramin maleat vào bình gạn 250 ml có chứa sẵn 50 ml nước, lắc kỹ trong 10 phút, điều chỉnh đến pH 11 bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, để nguội đến nhiệt độ phòng. Chiết hỗn hợp trên 2 lần, mỗi lần với 75 ml *hexan (TT)*. Tập trung dịch chiết hexan vào bình gạn thứ 2. Chiết dịch chiết hexan 3 lần, mỗi lần với 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tập trung dịch chiết acid vào bình định mức 200 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến vạch, lắc kỹ. Lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu, dịch lọc là dung dịch thử (40 µg/ml).

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở bước sóng cực đại khoảng 264 nm, dùng mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Tính hàm lượng của dexchlorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$, có trong chế phẩm dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$, trong dexchlorpheniramin maleat chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

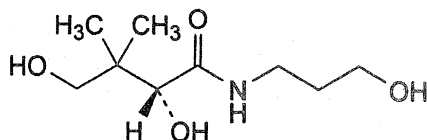
Kháng histamin.

Hàm lượng thường dùng

2 mg.

DEXPANTHENOL

Dexpanthenolum



$C_9H_{19}NO_4$

P.t.l: 205,3

Dexpanthenol là (2R)-2,4-dihydroxy-N-(3-hydroxypropyl)-3,3-dimethylbutanamid, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_9H_{19}NO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khan.

Tính chất

Chất lỏng nhớt, không màu hoặc màu hơi vàng, dễ hút ẩm, hay bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C, D.

Nhóm II: A, B.

A. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử "Góc quay cực riêng".

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của dexpanthenol chuẩn. Kiểm tra các chất sử dụng viên nén dẹt, được chuẩn bị bằng cách nhỏ từng giọt 0,5 ml dung dịch 0,5 % của mẫu thử và mẫu chuẩn trong *ethanol (TT)* lên viên nén dẹt *kali bromid (TT)*, sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 15 phút.

C. Bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng ở mực phép thử 3-aminopropanol. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

D. Thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và 0,1 ml *dung dịch đồng sulfat 12,5 % (TT)* vào 1 ml dung dịch S, xuất hiện màu xanh da trời.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,500 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi. Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu N₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S không được lớn hơn 10,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +29,0° đến +32,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Xác định trên dung dịch S.

3-Aminopropanol

Không được quá 0,5 %.

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - methanol - butanol (20 : 25 : 55).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng đến 5 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg dexpanthenol chuẩn trong *ethanol (TT)* và pha loãng đến 10 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg 3-amino-propanol (TT) trong ethanol (TT) và pha loãng đến 100 ml bằng cùng dung môi.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí, phun dung dịch acid trichloroacetic 10 % trong methanol (TT). Sấy bản mỏng ở 150 °C trong 10 phút. Sau đó phun tiếp dung dịch ninhydrin 0,1 % trong methanol và sấy ở 120 °C đến khi xuất hiện màu. Bất kỳ vết nào tương ứng với 3-aminopropanol trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng

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

Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,000 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Thêm 50,0 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) vào 0,400 g chế phẩm. Đun sôi dưới ống sinh hàn ngược trong 5 giờ (tránh ẩm). Để nguội, dùng 50 ml dioxan (TT) để rửa ống sinh hàn (tránh ẩm). Thêm 0,2 ml dung dịch naphtholbenzein (TT) và chuẩn độ bằng dung dịch kali hydrophthalat 0,1 M (CĐ) cho đến khi màu chuyển từ xanh sang vàng. Song song làm mẫu trắng.

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 20,53 mg $C_9H_{19}NO_4$.

Bảo quản

Đựng trong đồ đựng kín.

VIÊN NÉN DEXPANTHENOL

Tabellae Dexpanthenoli

Là viên nén chứa dexpanthenol.

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

Hàm lượng dexpanthenol, $C_9H_{19}NO_4$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng hoặc hơi vàng.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 5 mg dexpanthenol, thêm 1 ml ethanol (TT). Lọc và

nhỏ từng giọt khoảng 0,5 ml dịch lọc vừa nhỏ vừa thổi một luồng khí nóng để bốc hơi ethanol tạo một màng mỏng trên đĩa kali bromid tinh khiết IR (TT). Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của màng mỏng thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của dexpanthenol.

B. Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với khoảng 2,5 g dexpanthenol trong 50 ml nước không có carbon dioxyd (TT). Lọc (Dung dịch S).

Thêm 1 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT) và 0,1 ml dung dịch đồng sulfat 12,5 % vào 1 ml dung dịch S, xuất hiện màu xanh da trời.

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

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch A - methanol (60 : 40).

Dung dịch A: Thêm 1 ml acid phosphoric (TT) vào 1000 ml nước (Dung dịch A), trộn đều.

Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch dexpanthenol chuẩn có nồng độ 0,2 mg/ml trong pha động.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g dexpanthenol chuyển vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm khoảng 60 ml pha động, lắc kỹ cho tan, thêm pha động vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 10,0 ml dịch lọc pha loãng với pha động thành 50,0 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 μ m hoặc 10 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2 %.

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

Tính hàm lượng của dexpanthenol, $C_9H_{19}NO_4$, trong viên dựa vào các diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử, và hàm lượng $C_9H_{19}NO_4$ trong dexpanthenol chuẩn.

Bảo quản

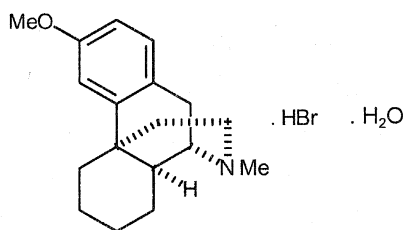
Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Dẫn xuất vitamin.

Hàm lượng thường dùng

100 mg.

DEXTROMETHORPHAN HYDROBROMID***Dextromethorphan hydrobromidum***C₁₈H₂₅NO. HBr. H₂O

P.t.l: 370,3

Dextromethorphan hydrobromid là (9S, 13S, 14S)-3-methoxy-17-methylmorphinan hydrobromid monohydrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % C₁₈H₂₅NO. HBr, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh gần như trắng. Dễ tan trong ethanol 96 %, hơi tan trong nước.

Chảy ở khoảng 125 °C kèm theo phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của dextromethorphan hydrobromid chuẩn.

B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu phép thử "Góc quay cực riêng".

C. Trong phép thử "Tạp chất liên quan", vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính của dung dịch đối chiếu (1).

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong ethanol 96 % (TT) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 0,4 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) bằng cách đun nóng nhẹ, để nguội và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Thêm 0,1 ml dung dịch đỏ methyl (TT) và 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 M. Dung dịch có màu vàng. Để chuyển sang màu đỏ, không được dùng quá 0,4 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 M.

Góc quay cực riêng

Từ +28° đến +30°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Xác định trên dung dịch chế phẩm 2 % trong dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT).

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 10 phần triệu.

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 20 ml nước bằng cách đun nóng trên cách thủy. Để nguội, thêm 2 ml acid acetic loãng (TT), 1 ml dung dịch natri nitrit 1 % (TT) và nước vừa đủ 25 ml, dung dịch này không được có màu thâm hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị trong cùng thời gian, trong cùng điều kiện nhưng dùng 20 ml dung dịch dimethylanilin 0,25 mg/l thay cho 20 ml dung dịch chế phẩm.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - methylen clorid - methanol - ethyl acetat - toluen (2 : 10 : 13 : 20 : 55).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 20 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg dextromethorphan hydrobromid chuẩn trong methanol (TT), pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 10 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10 ml bằng methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy ra, để khô bản mỏng ngoài không khí, phun dung dịch kali iodobismuthat (TT) và sau đó phun dung dịch hydrogen peroxyl loãng (TT). Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) và chỉ được một vết phụ đậm màu hơn vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Nước

4,0 % đến 5,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong một hỗn hợp gồm 5,0 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT) và 20 ml ethanol 96 % (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích được thêm vào giữa 2 điểm uốn.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ) tương đương với 35,23 mg C₁₈H₂₅NO.HBr.

Bảo quản

Bảo quản trong chai nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Giảm ho.

Chế phẩm

Viên nén, siro, dịch treo, dung dịch để uống.
Được phối hợp với nhiều thuốc khác.

**VIÊN NÉN DEXTROMETHORPHAN
HYDROBROMID**

Tabellae Dextromethorphan hydrobromidi

Là viên nén chứa dextromethorphan hydrobromid.

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

Hàm lượng dextromethorphan hydrobromid,
 $C_{18}H_{25}NO.HBr$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac - methylen clorid - methanol - ethyl acetat - toluen (2 : 10 : 13 : 20 : 55).

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương đương khoảng 15 mg dextromethorphan hydrobromid với 5 ml methanol (TT), ly tâm lấy dịch trong.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch dextromethorphan hydrobromid chuẩn 0,3 % trong methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, sau đó phun dung dịch kali iodobismuthat (TT) lên bản sắc ký và quan sát dưới ánh sáng thường. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

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

C. Lấy một lượng bột viên tương đương với 20 mg dextromethorphan hydrobromid, thêm 5 ml nước lắc kỹ, ly tâm lấy dung dịch trong, thêm 5 giọt dung dịch acid nitric 10 % (TT) và 1 ml dung dịch bạc nitrat 2 % (TT) sẽ xuất hiện tủa vàng. Lọc lấy tủa, rửa tủa 3 lần, mỗi lần với 1 ml nước. Phân tán tủa trong 2 ml nước, thêm 1,5 ml dung dịch amoniac 10 M (TT), tủa khó tan.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch chứa natri docusat 0,007 M và amoni nitrat 0,007 M trong hỗn hợp acetonitril - nước (70 : 30). Điều chỉnh đến pH 3,4 bằng acid acetic bằng (TT).

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương đương với khoảng 10 mg dextromethorphan hydrobromid vào bình định mức dung tích 100 ml, hòa tan và pha loãng với pha động vừa đủ đến vạch. Lắc đều, lọc.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch dextromethorphan hydrobromid chuẩn 0,01 % trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m).

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

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic dextromethorphan trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 % và hệ số đối xứng của pic dextromethorphan không được lớn hơn 2,5.

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

Tính hàm lượng dextromethorphan hydrobromid, $C_{18}H_{25}NO.HBr$, dựa vào các diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{25}NO.HBr$ trong dextromethorphan hydrobromid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

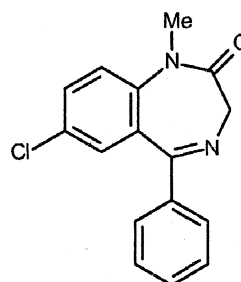
Điều trị ho.

Hàm lượng thường dùng

5 mg, 10 mg, 15 mg.

DIAZEPAM

Diazepamum



$C_{16}H_{13}ClN_2O$

P.t.l: 284,7

Diazepam là 7-cloro -1- methyl-5-phenyl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-on, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{13}ClN_2O$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng, không mùi hoặc gần như không mùi.

Rất khó tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Phép thử này phải được tiến hành tránh ánh sáng chói và đo độ hấp thụ ngay sau khi pha. Đo phổ hấp thụ từ ngoại (Phụ lục 4.1) ở dải sóng từ 230 nm đến 330 nm của dung dịch chế phẩm 0,0005 % trong *dung dịch acid sulfuric 0,5 % trong methanol*, sẽ có 2 cực đại hấp thụ ở 242 nm và 285 nm. A (1 %, 1 cm) ở cực đại 242 nm khoảng 1020. Phổ hấp thụ từ ngoại trong khoảng bước sóng từ 325 nm đến 400 nm của dung dịch chế phẩm 0,0025 % trong *dung dịch acid sulfuric 0,5 % trong methanol* chỉ có 1 cực đại hấp thụ ở 366 nm, A (1 %, 1 cm) ở cực đại 366 nm là 140 đến 155.

B. Điểm chảy: 131 °C đến 135 °C (Phụ lục 6.7).

C. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 3 ml *acid sulfuric (TT)*. Dung dịch cho huỳnh quang màu vàng xanh khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.

D. Cho 80 mg chế phẩm vào một chén sứ nung, thêm 0,3 g *natri carbonat khan (TT)*. Đốt trong 10 phút. Để nguội. Hòa lẫn trong 5 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)*, lọc. Cho 1 ml *nước* vào 1 ml dịch lọc. Dung dịch này cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan và sản phẩm phân hủy

Phép thử được thực hiện tránh ánh sáng chói và bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - hexan (1 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *aceton (TT)*, pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng *aceton (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 10 ml bằng *aceton (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trong sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).

Kim loại nặng

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

Lấy 2,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3.

Dùng 4,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; áp suất giảm; phosphor pentoxyd; 60 °C; 4 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 50 ml *anhydrid acetic (TT)*, thêm 0,3 ml *dung dịch lục malachit (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)* đến khi màu chuyển từ xanh sang vàng, song song tiến hành mẫu trắng.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)* tương đương với 28,47 mg $C_{16}H_{13}ClN_2O$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

An thần, gây ngủ.

Chế phẩm

Viên nén, nang, viên đạn, thuốc tiêm.

VIÊN NÉN DIAZEPAM

Tabellae Diazepami

Là viên nén chứa diazepam.

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

Hàm lượng của diazepam, $C_{16}H_{13}ClN_2O$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Trong phần Định lượng: Phổ hấp thụ từ ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử đo trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm phải có hai cực đại ở 242 nm và 284 nm.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (100 : 10).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 50 mg diazepam với 10 ml *methanol (TT)*. Để lắng và lấy dịch trong ở trên.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch diazepam chuẩn trong *methanol (TT)* nồng độ 5 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra và phun *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy ở 105 °C trong 10 phút. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan và sản phẩm phân hủy

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethylacetat - hexan (1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy lượng bột viên tương đương 50 mg diazepam lắc với 5 ml ethanol 96 % (TT), lọc.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 ml dung dịch thử pha loãng với ethanol 96 % (TT) vừa đủ 50 ml.

Cách tiến hành: Chấm lên bản mỏng 20 µl dung dịch thử và 5 µl dung dịch đối chiếu vừa mới pha. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu và pha loãng dịch lọc với dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) để được dung dịch có nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 286 nm với mẫu trắng là dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT). Tính hàm lượng diazepam, C₁₆H₁₃ClN₂O, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 488 là giá trị A (1 %, 1 cm) của diazepam ở bước sóng cực đại 286 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % lượng diazepam so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Độ đồng đều hàm lượng

Viên nén chứa ít hơn 10 mg diazepam, phải đáp ứng yêu cầu "Độ đồng đều hàm lượng" (Phụ lục 11.2). Thực hiện phép thử giống như phần Định lượng.

Dung dịch thử: Lấy 1 viên, thêm 1 ml nước và để yên 15 phút cho rã, thêm 80 ml dung dịch acid sulfuric 0,5 % trong methanol, lắc 15 phút và thêm dung môi này cho tới vừa đủ 100,0 ml. Pha loãng nếu cần với cùng dung môi để được dung dịch có nồng độ thích hợp.

Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch diazepam chuẩn trong dung dịch acid sulfuric 0,5 % trong methanol có nồng độ tương đương với nồng độ của dung dịch thử.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg diazepam cho vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 5 ml nước, trộn đều rồi để yên 15 phút, thêm khoảng 70 ml dung dịch acid sulfuric 0,5 % trong methanol, lắc 15 phút và thêm dung môi

này vừa đủ tới vạch, lắc đều, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với cùng dung môi trên. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 284 nm, trong cốc đo 1 cm. Mẫu trắng là dung dịch acid sulfuric 0,5 % trong methanol. Tính hàm lượng diazepam theo A (1 %, 1 cm). Lấy 450 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 284 nm.

Bảo quản

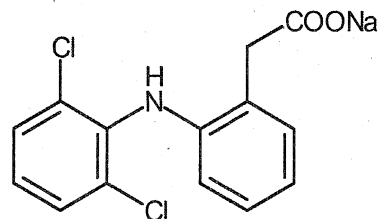
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

An thần, giải lo, gây ngủ.

Hàm lượng thường dùng

2 mg, 5 mg, 10 mg.

DICLOFENAC NATRI**Diclofenacum natriicum**

C₁₄H₁₀Cl₂NNaO₂

P.t.l: 318,1

Diclofenac natri là natri 2-[(2,6-diclorophenyl)amino]-phenyl]acetat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % C₁₄H₁₀Cl₂NNaO₂, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc hơi vàng, hút ẩm nhẹ. Dễ tan trong methanol, tan trong ethanol 96 %, hơi tan trong nước, khó tan trong acetone.

Chảy ở khoảng 280 °C kèm theo phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của diclofenac natri chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - methanol - ethyl acetat (10 : 10 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg diclofenac natri chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg indomethacin trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 2 ml bằng dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l của mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.

C. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 10 ml *ethanol* 96 % (TT). Hút 1 ml dung dịch thêm 0,2 ml hỗn hợp đồng thể tích (pha ngay trước khi sử dụng) của *dung dịch kali fericyanid* 0,6 % và *dung dịch sắt (III) clorid* 0,9 %. Để yên khoảng 5 phút, tránh ánh sáng. Thêm 3 ml *dung dịch acid hydroclorid* 1 % (TT). Để yên khoảng 15 phút, tránh ánh sáng. Dung dịch xuất hiện màu xanh nước biển và tủa được tạo thành.

D. Hòa tan 60 mg chế phẩm trong 0,5 ml *methanol* (TT) và 0,5 ml *nước*. Dung dịch phải cho phản ứng đặc trưng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong của dung dịch

Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ của dung dịch (Phụ lục 4.1) đo ở bước sóng 440 nm không được lớn hơn 0,05.

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp A - *methanol* (40 : 60).

Hỗn hợp A: 1000 ml dung dịch có chứa 1,0 g *acid phosphoric* (TT) và 1,6 g *natri dihydrophosphat* (TT), được điều chỉnh về pH 2,5 sử dụng *acid phosphoric* (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hút 1,0 ml dung dịch thử pha loãng với *methanol* (TT) thành 50,0 ml. Hút 1,0 ml dung dịch này pha loãng với *methanol* (TT) thành 10,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 1,0 mg *diazepam* trong *methanol* (TT), thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml bằng *methanol* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi octylsilyl silica gel đã được khóa nhóm silanol loại dùng cho sắc ký (5 μ m).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (2); Với điều kiện sắc ký đã mô tả ở trên, thời gian lưu của pic diclofenac khoảng 25 phút đến 26 phút, thời gian lưu của pic *diazepam* khoảng 16 phút. Độ phân giải giữa 2 pic không được nhỏ hơn 6,5. Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao

của pic diclofenac trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) không được thấp hơn 50 % thang đo. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1), tiến hành chạy sắc ký gấp 1,5 lần thời gian lưu của pic diclofenac. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %). Tổng diện tích các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1).

Kim loại nặng

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

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 30 ml *acid acetic băng* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CĐ). Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CĐ) tương đương với 31,81 mg $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống viêm không steroid.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc tiêm, thuốc đạn, thuốc nhỏ mắt, thuốc gel xoa ngoài.

THUỐC TIÊM DICLOFENAC NATRI

Injectio Diclofenaci natrii

Là thuốc tiêm chứa diclofenac natri.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng diclofenac natri, $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu hoặc có màu vàng nhạt.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: *Cloroform - acetone - acid formic* (90 : 5 : 5)

Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích dung dịch chế phẩm tương ứng khoảng 25 mg diclofenac natri với *methanol* (TT) vừa đủ 10 ml.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 0,25 % diclofenac natri trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra và làm khô bằng luồng khí nóng nhẹ. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, hình dạng và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

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

pH

Từ 8,0 đến 9,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: Dung dịch *acid phosphoric* 0,01 M - dung dịch *natri dihydrophosphat* 0,01 M - *methanol* (10 : 25 : 65).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch diclofenac natri chuẩn 0,005 % trong hỗn hợp *methanol* - nước (65 : 35)

Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chính xác dung dịch chế phẩm bằng hỗn hợp *methanol* - nước (65 : 35) để thu được dung dịch có nồng độ diclofenac natri khoảng 0,005 %.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 μ m).

Nhiệt độ cột: 35 °C.

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

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký. Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic chính từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng diclofenac natri, $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ trong diclofenac natri chuẩn.

Bảo quản

Đóng ống thủy tinh hàn kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng

Ống tiêm 75 mg/2 ml; 75 mg/3 ml.

VIÊN NÉN DICLOFENAC

Tabellae Diclofenaci

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

Hàm lượng diclofenac natri, $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao màu đồng nhất, khô.

Định tính

Loại bỏ lớp bao của viên, nghiền thành bột mịn. Lấy một lượng bột tương ứng với khoảng 150 mg diclofenac natri. Thêm 0,5 ml *acid acetic* (TT) và 15 ml *methanol* (TT), lắc siêu âm. Lọc dung dịch qua giấy lọc vào cốc đựng 15 ml nước, xuất hiện tủa. Lọc lấy tủa dưới áp suất giảm. Rửa tủa lại 4 lần, mỗi lần với 5 ml nước. Sấy ở 105 °C trong 2 đến 3 giờ. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa đã sấy khô phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của diclofenac.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Giai đoạn trong môi trường acid:

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch *acid hydrochloric* 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 2 h.

Cách tiến hành: Sau thời gian qui định, lấy viên ra khỏi môi trường hòa tan và chuyển ngay sang thực hiện Giai đoạn trong môi trường đệm.

Thêm 20 ml dung dịch *natri hydroxyd* 5 M (TT) vào cốc thử đựng môi trường hòa tan còn lại ở trên, trộn đều, lọc nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 276 nm, mẫu trắng là hỗn hợp dung dịch *acid hydrochloric* 0,1 M (TT) và dung dịch *natri hydroxyd* 5 M (900 : 20). So sánh với dung dịch chuẩn được chuẩn bị như sau: Cân chính xác khoảng 68 mg diclofenac natri chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml dung dịch *natri hydroxyd* 0,1 M, thêm nước vừa đủ, lắc đều. Hút chính xác 2 ml dung dịch này vào một bình định mức 100 ml khác, thêm mẫu trắng vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Yêu cầu: Không quá 10 % lượng diclofenac natri, $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, so với lượng ghi trên nhãn hòa tan trong 2 giờ.

Giai đoạn trong môi trường đệm:

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm phosphat pH 6,8.

Dung dịch đệm phosphat pH 6,8: Hòa tan 76 g *natri phosphat tribasic (TT)* trong vừa đủ 1000 ml *nước*. Trộn đều 250 ml dung dịch này với 750 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)*, điều chỉnh đến pH $6,8 \pm 0,1$ bằng *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 60 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng với dung dịch đệm phosphat pH 6,8 để được dung dịch có nồng độ diclofenac natri khoảng 0,02 mg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 276 nm trong cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch đệm phosphat pH 6,8 làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch chuẩn được chuẩn bị như sau: Cân chính xác khoảng 68 mg diclofenac natri chuẩn vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*, thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Hút chính xác 3,0 ml dung dịch này vào một bình định mức dung tích 100 ml khác, thêm dung dịch đệm phosphat pH 6,8 vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % lượng diclofenac natri, $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, so với lượng ghi trên nhãn hòa tan trong cả hai giai đoạn.

Định lượng

Cân 20 viên đã loại bỏ lớp bao, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg diclofenac natri vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *nước*, lắc đều, lắc siêu âm trong 20 phút, thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc qua giấy lọc mịn, loại bỏ 20 ml dung dịch lọc đầu. Lấy chính xác 2 ml dung dịch lọc vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 282 nm trong cốc đo dày 1 cm, dùng *ethanol 96 % (TT)* làm mẫu trắng. So sánh với một dung dịch chuẩn có nồng độ tương đương, tiến hành song song trong cùng điều kiện.

Bảo quản

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

Loại thuốc

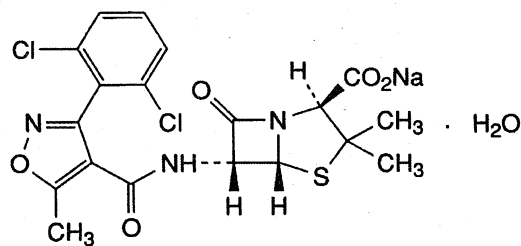
Thuốc chống viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng

25 mg, 50 mg.

DICLOXACILIN NATRI

Dicloxacillinum natricum



$C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S \cdot H_2O$

P.t.l: 510,3

Dicloxacin natri là muối natri của acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[[3-(2,6-dichlorophenyl)-5-methylisoxazol-4-yl]-carbonyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic, phải chứa từ 95,0 % đến 101,0 % $C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng, hút ẩm.

Đễ tan trong *nước*, tan trong *ethanol 96 %* và *methanol*.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của dicloxacin natri chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel H đã được silan hóa.

Dung môi khai triển: Aceton - *dung dịch amoni acetat 15,4 %* được chỉnh pH đến 5,0 bằng *acid acetic băng (TT)* (30 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg dicloxacin natri chuẩn trong 5 ml *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg cloxacilin natri chuẩn, 25 mg dicloxacin natri chuẩn và 25 mg flucloxacilin natri chuẩn trong 5 ml *nước*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và đặt bản mỏng vào bình có hơi iod cho đến khi xuất hiện các vết. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 3 vết tách rõ ràng.

C. Lấy khoảng 2 mg chế phẩm vào một ống nghiệm dài khoảng 15 cm và đường kính trong khoảng 1,5 cm. Làm ẩm bằng 0,05 ml *nước* và thêm 2 ml *dung dịch formal-*

dehyd trong acid sulfuric (TT). Trộn các thành phần trong ống bằng cách lắc mạnh, dung dịch xuất hiện màu vàng hơi xanh. Để ống nghiệm trong nồi cách thủy khoảng 1 phút, dung dịch chuyển sang màu vàng.
D. Chế phẩm cho phản ứng A của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch S đo ở bước sóng 430 nm không được lớn hơn 0,04.

pH

Dung dịch S có pH từ 5,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +128° đến +143°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

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

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Điều kiện sắc ký: Như mô tả trong mục Định lượng.

Tiêm dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ thu được không nhỏ hơn 50 % thang đo. Tiêm dung dịch thử (1) và tiếp tục sắc ký trong khoảng thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của pic chính.

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1): Diện tích của bất kỳ pic nào ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1 %). Tổng diện tích tất cả các pic, ngoài pic chính không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5,0 %). Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

N,N-Dimethylanilin

Không quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-Ethylhexanoic

Không quá 0,8 % kl/kl (Phụ lục 10.17).

Nước

3,0 % đến 4,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Chất gây sốt

Nếu chế phẩm dự định dùng trong sản xuất thuốc tiêm dạng phân liều mà không có phương pháp loại bỏ chất gây sốt thì chế phẩm phải thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4).

Tiêm 1 ml dung dịch chứa 20 mg chế phẩm trong 1 ml nước cất pha tiêm cho 1 kg trọng lượng thử.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm dạng phân liều mà không có phương pháp tiệt khuẩn nào khác thì chế phẩm phải đạt yêu cầu của phép thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,27 % được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng dung dịch natri hydroxyl loãng - acetonitril (75 : 25).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan 50,0 mg dicloxacilin natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch chuẩn (2): Hòa tan 5 mg flucloxacilin natri chuẩn và 5 mg dicloxacilin natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (2) thành 50,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Tiêm dung dịch chuẩn (2). Khi sắc ký đồ ghi được trong những điều kiện đã mô tả, thời gian lưu của dicloxacilin khoảng 10 phút. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống để chiều cao của các pic chính trong sắc ký đồ thu được ít nhất bằng 50 % thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic flucloxacilin và dicloxacilin không được nhỏ hơn 2,5.

Tiêm 6 lần dung dịch chuẩn (1), độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic dicloxacilin không được lớn hơn 1,0 %. Tiêm dung dịch thử (2) và dung dịch chuẩn (1). Tính hàm lượng $C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử (2), dung dịch chuẩn (1) và hàm lượng $C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S$ trong dicloxacilin natri chuẩn.

Bảo quản

Trong chai lọ nút kín, ở nhiệt độ dưới 25 °C. Nếu là chế phẩm vô khuẩn thì chai lọ đựng phải được tiệt trùng, gắn kín, chống nhiễm khuẩn.

Loại thuốc

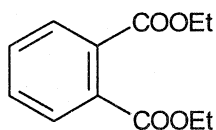
Kháng khuẩn.

Chế phẩm

Viên nang, dịch treo uống.

DIETHYL PHTALAT

Diethylis phthalas



$C_{12}H_{14}O_4$

P.t.l: 222,2

Diethyl phtalat là diethyl benzen-1,2-dicarboxylat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % (kl/kl) $C_{12}H_{14}O_4$.

Tính chất

Chất lỏng sánh, trong suốt, không màu hoặc có màu vàng rất nhạt. Thực tế không tan trong nước, hòa lẫn với ethanol 96 % và với ether.

Định tính

Có thể chọn 1 trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C.

Nhóm II: A, D, E.

A. Tỷ trọng tương đối: từ 1,117 đến 1,121 (Phụ lục 6.5)

B. Chỉ số khúc xạ: từ 1,500 đến 1,505 (Phụ lục 6.1).

C. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của diethyl phtalat chuẩn, dùng kỹ thuật phim mỏng.

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

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Heptan - ether* (30 : 70)

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *ether* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg diethylphtalat chuẩn trong *ether* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

E. Lấy khoảng 0,1 ml chế phẩm, thêm 0,25 ml *acid sulfuric* (TT) và 50 mg *resorcinol* (TT). Đun trên cách thủy trong 5 phút. Để nguội, thêm 10 ml *nước* và 1 ml *dung dịch natri hydroxyd* 42 %. Dung dịch trở nên vàng hoặc vàng nâu và có huỳnh quang xanh lục.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Chế phẩm phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Hòa tan 20,0 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol* 96 % (TT) đã được trung hòa trước với *dung dịch phenol-*

phtalein (TT). Nhỏ *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CĐ) tới khi xuất hiện lại màu hồng. Lượng *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CĐ) tiêu thụ không được quá 0,1 ml.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2), dùng *naphtalen* (TT) làm chuẩn nội.

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 60 mg *naphtalen* (TT) trong *methylen clorid* (TT) và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *methylen clorid* (TT) và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *methylen clorid* (TT), thêm 2,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 20,0 ml bằng *methylen clorid* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1,0 ml dung dịch thử (1), thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 100,0 ml bằng *methylen clorid* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh có chiều dài 2 m và đường kính trong 2 mm, được nhồi *diatomit đã silan hóa dùng cho sắc ký khí* (TT) (150 μ m đến 180 μ m) được tẩm 3 % (kl/kl) *polymethyl phenylsiloxan* (TT).

Khí mang là *nitơ dùng cho sắc ký* (TT) có lưu lượng 30 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Giữ nhiệt độ của cột ở 150 °C, nhiệt độ của buồng tiêm mẫu và detector ở 225 °C.

Cách tiến hành: Tiêm 1 μ l dung dịch đối chiếu. Các chất được rửa giải theo thứ tự như sau: *naphtalen* và *diethylphtalat*. Điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của pic *naphtalen* không được nhỏ hơn 50 % thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic *naphtalen* và *diethyl phtalat* ít nhất là 10.

Tiêm 1 μ l dung dịch thử (1). Trên sắc ký đồ thu được không có pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của chuẩn nội.

Tiêm riêng biệt 1 μ l dung dịch thử (2) và 1 μ l dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký dung dịch thử trong thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của *diethylphtalat*. Từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, tính tỷ lệ (R) giữa diện tích pic của *diethylphtalat* và diện tích pic của chuẩn nội. Từ sắc ký đồ của dung dịch thử (2), tính tỷ lệ giữa tổng diện tích của các pic ngoài pic chính, pic chuẩn nội và pic dung môi, với diện tích pic của chuẩn nội, tỷ lệ này không được lớn hơn R (1,0 %).

Nước

Không được quá 0,2 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 5,0 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Cân 0,750 g chế phẩm vào bình thủy tinh dung tích 250 ml. Thêm 25,0 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)* và vài viên đá bọt. Đun sôi trên cách thủy dưới ống sinh hàn ngược trong 1 giờ. Thêm 1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)*. Song song làm mẫu trắng.

1 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)* tương đương với 55,56 mg $C_{12}H_{14}O_4$.

Bảo quản

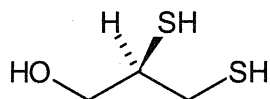
Đựng trong lọ kín, để nơi khô mát.

Loại thuốc

Trị ghê, ngứa.

Chế phẩm

Thuốc mỡ DEP.

DIMERCAPROL***Dimercaprolum*****B.A.L**

và đồng phân đối quang

$C_3H_8OS_2$

P.t.l: 124,2

Dimercaprol là (2*RS*)-2,3-disulfanylpropan-1-ol, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_3H_8OS_2$.

Tính chất

Chất lỏng trong suốt không màu hoặc màu vàng nhạt, có mùi tỏi.

Tan trong nước và dầu lạc, hòa lẫn với ethanol 96 % và benzyl benzoat.

Định tính

A. Hòa tan 0,05 ml chế phẩm trong 2 ml *nước*, thêm 1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*. Màu của iod biến mất ngay.

B. Hòa tan 0,1 ml chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch đồng sulfat 12,5 % (TT)*. Tủa màu xanh đen xuất hiện và chuyển nhanh sang màu xám đen.

C. Trong bình nón có nút mài trộn 0,6 g *natri bismuthat (TT)* (đã được đun trước đó ở 200 °C trong 2 giờ) với hỗn hợp gồm 2,8 ml *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)* và 6 ml *nước*. Thêm 0,2 ml chế phẩm, trộn đều và để 10 phút, thỉnh thoảng lắc. Lấy 1 ml chất lỏng phía trên, thêm 5 ml *dung dịch muối natri của acid cro-*

motropic 0,4 % trong acid sulfuric đậm đặc, trộn đều. Đun trong cách thủy 15 phút, màu đỏ tím xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của chế phẩm

Chế phẩm phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm hơn màu mẫu N_6 hoặc VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Thêm 0,25 ml *dung dịch lục bromocresol (TT)* và 0,3 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)*. Màu của dung dịch phải vàng. Để chuyển sang màu xanh, không được dùng quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)*.

Chỉ số khúc xạ

Từ 1,568 đến 1,574 (Phụ lục 6.1).

Halogen

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 25 ml *dung dịch kali hydroxyd trong ethanol (TT)*, đun hồi lưu 2 giờ. Làm bay hơi ethanol bằng cách bốc hơi trong luồng khí nóng, thêm 20 ml *nước*, để nguội. Thêm vào hỗn hợp 40 ml *nước* và 10 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc (TT)*, đun sôi nhẹ trong 10 phút, để nguội, lọc nhanh. Thêm 10 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)*, 5,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (CĐ)* và 2 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat (TT)*, định lượng bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 M (CĐ)* cho đến màu vàng đỏ. Thực hiện song song mẫu trắng trong cùng điều kiện. Thử tích dung dịch chuẩn độ dùng cho 2 lần định lượng không được lệch nhau quá 1,0 ml.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 40 ml *methanol (TT)*. Thêm 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* và 50,0 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*. Để yên 10 phút rồi chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*. Thực hiện song song mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 6,21 mg $C_3H_8OS_2$.

Bảo quản

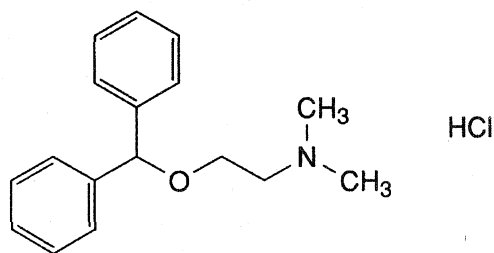
Trong đồ đựng kín, đậy đầy. Tránh ánh sáng, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc

Trị ngộ độc arsen, vàng và thủy ngân.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

DIPHENHYDRAMIN HYDROCLORID***Diphenhydraminum hydrochloridum*** $C_{17}H_{21}NO.HCl$

P.t.l: 291,8

Diphenhydramin hydroclorid là 2-(diphenyl-methoxy)-*N,N*-dimethylethanamin hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{17}H_{21}NO.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng, rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của diphenhydramin hydroclorid chuẩn.

B. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong ethanol 96 % (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Ghi phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm. Phổ thu được có 3 cực đại hấp thụ ở các bước sóng 253 nm, 258 nm và 264 nm. Tỷ số độ hấp thụ đo ở bước sóng cực đại 258 nm và ở 253 nm khoảng từ 1,1 đến 1,3. Tỷ số độ hấp thụ đo ở bước sóng cực đại 258 nm và ở 264 nm khoảng từ 1,2 đến 1,4.

C. Điểm chảy: 168 °C đến 172 °C (Phụ lục 6.7).

D. Chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

Dung dịch S và dung dịch pha loãng gấp 5 lần của dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid kiềm

Thêm 0,15 ml dung dịch đỏ methyl (TT) và 0,25 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT) vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch thu được có màu hồng. Dung dịch này phải chuyển sang màu vàng khi thêm không quá 0,5 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ).

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel H.

Dung môi khai triển: Diethylamin - methanol - cloroform (1 : 20 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí trong 5 phút, phun lên bản mỏng acid sulfuric (TT) và sấy ở 120 °C trong 10 phút hoặc đến khi xuất hiện các vết. Trong sắc ký đồ của dung dịch thử, bắt cứ vết phụ nào, không được đậm hơn vết thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

Dùng 1,000 g chế phẩm, sấy ở 100 °C đến 105 °C.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml ethanol 96 % (TT) và thêm 5,0 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích giữa hai điểm uốn.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ) tương đương với 29,18 mg $C_{17}H_{22}ClNO$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng histamin, chất đối kháng thụ thể histamin H₁.

Chế phẩm

Viên nén, viên nang, thuốc tiêm, kem bôi, dung dịch uống.

DỊCH TRUYỀN RINGER - LACTAT***Infusio Ringer-Lactate***

Là dung dịch vô trùng để truyền tĩnh mạch có chứa: 0,027 % calci clorid, 0,4 % kali clorid, 0,6 % natri clorid và 0,32 % natri lactat trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng natri, Na, từ 0,27 % đến 0,32 %.

Hàm lượng kali, K, từ 0,019 % đến 0,022 %.

Hàm lượng clorid toàn phần, Cl, từ 0,37 % đến 0,42 %.

Hàm lượng calci clorid dihydrat, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, từ 0,025 % đến 0,029 %.

Hàm lượng lactat, $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$, từ 0,23 % đến 0,28 %.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

A. Làm âm chế phẩm cùng với *kali permanganat* (TT), tạo thành acetaldehyd (định tính lactat).

B. Trong phần định lượng lactat, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

C. Định tính natri và kali: Dùng một dây bạch kim, lấy một ít cần thu được sau khi bốc hơi dung dịch chế phẩm, đưa vào ngọn lửa khí đốt hay đèn cồn, ngọn lửa sẽ nhuộm màu vàng. Khi quan sát ngọn lửa qua kính màu xanh thì ngọn lửa nhuộm màu đỏ tía.

D. Dung dịch chế phẩm phải cho phản ứng B của ion calci (Phụ lục 8.1).

E. Dung dịch chế phẩm phải cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 5,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Nội độ tổ vi khuẩn

Không quá 0,25 IU/ml.

Tiến hành theo chuyên luận "Phép thử nội độ tổ vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Định lượng calci clorid dihydrat

Lấy chính xác 50,0 ml dung dịch chế phẩm vào bình nón dung tích 250 ml, thêm 5,0 ml *dung dịch magnesi sulfat 0,01 M* (CD) và 5 ml *đệm amoniack pH 10,9*, lắc đều. Chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,01 M* (CD), sử dụng *dung dịch đen eriocrom T* (TT) làm chỉ thị.

Tính kết quả từ hiệu thể tích *dung dịch Trilon B 0,01 M* (CD) và thể tích *dung dịch magnesi sulfat 0,01 M* (CD) đã thêm vào.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,01 M* (CD) tương ứng với 1,470 mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Định lượng kali

Phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử (Phụ lục 4.4, Phương pháp 1).

Dung dịch chuẩn: Tiến hành pha loãng dung dịch chuẩn kali nồng độ 600 phần triệu từng bước bằng *nước trao đổi ion* (TT) để thu được dung dịch chuẩn kali có nồng độ thích hợp.

Dung dịch thử: Tiến hành pha loãng dung dịch chế phẩm, từng bước bằng *nước trao đổi ion* (TT), để thu được dung dịch có nồng độ kali thích hợp.

Cách tiến hành:

Tiến hành đo cường độ phát xạ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử (Phụ lục 4.4), tại bước sóng 766,5 nm.

Định lượng natri

Phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử (Phụ lục 4.4, Phương pháp 1).

Dung dịch chuẩn: Tiến hành pha loãng dung dịch chuẩn natri nồng độ 200 phần triệu từng bước bằng *nước trao đổi ion* (TT) để thu được dung dịch chuẩn natri có nồng độ thích hợp.

Dung dịch thử: Tiến hành pha loãng dung dịch chế phẩm từng bước bằng *nước trao đổi ion* (TT), để thu được dung dịch có nồng độ natri thích hợp.

Cách tiến hành:

Tiến hành đo cường độ phát xạ của dung dịch chuẩn và thử bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử (Phụ lục 4.4), tại bước sóng 589,0 nm.

Định lượng tổng clorid

Lấy chính xác 20,0 ml dung dịch chế phẩm vào bình nón dung tích 250 ml, thêm 30 ml *nước*, thêm 50,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N* (CD) và 2 ml *acid nitric* (TT), lắc kỹ. Lọc, rửa tủa bằng *nước* đã được acid hóa bằng *acid nitric* (TT). Gộp dịch lọc và dịch rửa, định lượng dung dịch bạc nitrat dư bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N* (CD), chỉ thị là *dung dịch sắt* (III) *amoni sulfat 10 %* (TT).

1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N* tương đương với 3,545 mg Cl.

Định lượng lactat

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp *nước* và *dung dịch octylamin 2 %* (tt/tt) trong *acetonitril* (90 : 10), điều chỉnh hỗn hợp đến pH 7,0 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 %* (TT).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch lithi lactat 0,28 % pha trong pha động.

Dung dịch thử: Sử dụng dung dịch chế phẩm không pha loãng.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm đến 10 µm), cột Nucleosil C18 là thích hợp.

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

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

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

Tính nồng độ phần trăm lactat, $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ

dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_3H_6O_3$ trong lithi lactat chuẩn.

Bảo quản

Trong chai nút kín.

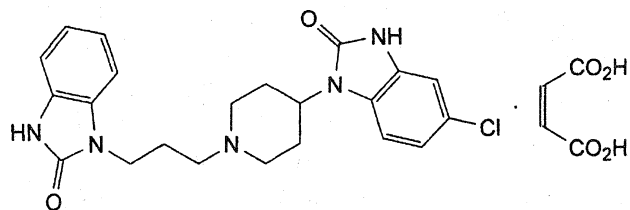
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Dịch truyền bù nước và điện giải, cân bằng toan-kiềm.

DOMPERIDON MALEAT

Domperidoni maleas



$C_{22}H_{24}ClN_5O_2 \cdot C_4H_4O_4$

P.t.l: 542,0

Domperidon maleat là 5-cloro-1-[1-[3-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-1-yl)propyl]piperidin-4-yl]-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-on hydro(z)-butendioat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{22}H_{24}ClN_5O_2 \cdot C_4H_4O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột đa hình màu trắng hay gần như trắng. Hơi tan trong dimethylformamid, khó tan trong methanol, rất khó tan trong nước và ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của domperidon maleat chuẩn. Nếu hai phổ có sự khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong thể tích tối thiểu isopropanol (TT), bốc hơi đến khô trên cách thủy, lấy các căn ghi phổ lại.

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

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoni acetat - dioxan - methanol (20 : 40 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg domperidon maleat chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg domperidon maleat chuẩn và 20 mg droperidol chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành:

Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng khí nóng khoảng 15 phút và đặt bản mỏng vào bình bão hòa hơi iod đến khi hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách hoàn toàn.

C. Trộn 0,1 g chế phẩm với hỗn hợp gồm 1 ml dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT) và 3 ml nước, lắc 3 lần, mỗi lần với 5 ml ether (TT). Bỏ lớp ether. Lấy 0,1 ml lớp nước, thêm dung dịch gồm 10 mg resorcinol (TT) hòa tan trong 3 ml acid sulfuric (TT), đun nóng trên cách thủy 15 phút, dung dịch không được có màu. Lấy lớp nước còn lại ở trên, thêm 2 ml nước brom (TT), đun nóng trên cách thủy 15 phút và sau đó đun đến sôi, làm nguội. Lấy 0,1 ml dung dịch thu được, thêm dung dịch gồm 10 mg resorcinol (TT) hòa tan trong 3 ml acid sulfuric (TT), đun nóng trên cách thủy 15 phút, màu tím xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong dimethylformamid (TT) và pha loãng thành 20,0 ml bằng cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu V₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp methanol và dung dịch amoni acetat 0,5 % (3 : 7), chuyển thành methanol bằng gradient tuyến tính trong 10 phút, tiếp theo rửa giải bằng methanol (TT) trong 2 phút.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong dimethylformamid (TT) và pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dimethylformamid (TT). Pha loãng tiếp 5,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml bằng dimethylformamid (TT).

Dung dịch phân giải: Hòa tan 10,0 mg domperidon maleat chuẩn và 15,0 mg droperidol chuẩn trong dimethylformamid (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,1 m $\times$ 4,6 mm) được nhồi base-deactivated octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (3 μ m).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột ít nhất 30 phút bằng *methanol* (TT), sau đó bằng thành phần pha động ban đầu ít nhất 5 phút. Tiêm dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống để chiều cao của pic chính ít nhất bằng 50 % thang đo. Tiêm dung dịch phân giải. Với các điều kiện sắc ký nêu trên, thời gian lưu của domperidon maleat khoảng 6,5 phút và của droperidol khoảng 7 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic domperidon maleat và pic droperidol ít nhất là 2,0. Nếu cần, điều chỉnh nồng độ *methanol* của pha động hay chương trình thời gian cho gradient tuyến tính. Tiêm mẫu trắng là dimethylformamid. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,25 %), tổng diện tích của các pic phụ, không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Bỏ qua các pic thu được với mẫu trắng, pic acid maleic ở đầu sắc ký đồ và các pic có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) đến khi màu chuyển từ vàng cam sang xanh lá, dùng 0,2 ml *dung dịch naphtholbenzein* (TT) làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 54,20 mg $C_{22}H_{24}ClN_5O_2 \cdot C_4H_4O_4$.

Bảo quản

Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

VIÊN NÉN DOMPERIDON

Tabellae Domperidoni

Là viên nén chứa domperidon maleat.

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

Hàm lượng domperidon, $C_{22}H_{24}ClN_5O_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung dịch natri acetat pH 4,7: Hòa tan 1,36 g *natri acetat* (TT) trong 50 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,7 bằng *acid acetic loãng* (TT) và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung môi khai triển: *Dung dịch natri acetat pH 4,7 - methanol - dicloromethan - ethyl acetat* (5 : 18 : 23 : 54)

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương đương khoảng 10 mg domperidon với 10 ml hỗn hợp đồng thể tích *dicloromethan* (TT) và *methanol* (TT), lọc qua phễu lọc thủy tinh (Whatman GF/C là thích hợp).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch domperidon maleat chuẩn 0,127 % trong hỗn hợp đồng thể tích *dicloromethan* (TT) và *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, sau đó phun *dung dịch kali iodobismuthat* (TT) và quan sát. Trong cả hai lần quan sát, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

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

Độ hòa tan

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng tới nồng độ thích hợp với *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT) (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 286 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT) làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch domperidon maleat chuẩn 0,001 % pha trong *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT).

Tính hàm lượng domperidon, $C_{22}H_{24}ClN_5O_2$, đã hòa tan trong mỗi viên từ độ hấp thụ đo được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng domperidon, $C_{22}H_{24}ClN_5O_2$ trong domperidon maleat chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng domperidon, $C_{22}H_{24}ClN_5O_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: Nước - acetonitril - acid acetic băng - triethylamin (500 : 500 : 5 : 5).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 63,5 mg domperidon maleat chuẩn vào bình định mức dung tích 100 ml, hòa tan và pha loãng với pha động đến vạch. Lắc đều. Lấy chính xác 5 ml dung dịch trên cho vào bình định mức dung tích 50 ml và pha loãng với pha động đến vạch, lắc đều.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương đương với khoảng 25 mg domperidon vào bình định mức dung tích 50 ml, hòa tan và pha loãng với pha động đến vạch. Lắc đều, lọc. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc trên cho vào bình định mức dung tích 50 ml và pha loãng với pha động đến vạch, lắc đều, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

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

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic domperidon giữa các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng domperidon, $C_{22}H_{24}ClN_5O_2$, dựa vào diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{24}ClN_5O_2$ trong domperidon maleat chuẩn.

1 mg domperidon maleat tương ứng với 0,7858 mg domperidon.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống nôn.

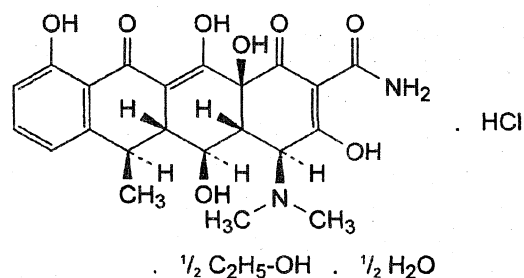
Hàm lượng thường dùng

10 mg.

DOXYCYCLIN HYDROCLORID

Doxycyclini hydrochloridum

Doxycyclin hyclat



$C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl \cdot \frac{1}{2}C_2H_5O \cdot \frac{1}{2}H_2O$

P.t.l: 512,9

Doxycyclin hydroclorid là (4*S*,4*aR*,5*S*,5*aR*,6*R*,12*aS*)-4-(dimethylamino)-3,5,10,12,12*a*-pentahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-1,4,4*a*,5,5*a*,6,11,12*a*-octahydrotetracen-2-carboxamid hydroclorid hemimethanol hemihydrat, bán tổng hợp từ oxytetracyclin hoặc metacyclin, hoặc bằng các phương pháp khác. Chế phẩm phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$, tính theo chế phẩm khan và không có ethanol.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng, hút ẩm. Dễ tan trong nước và trong methanol, hơi tan trong ethanol 96 %, tan trong dung dịch kiềm hydroxyd và carbonat.

Định tính

A. Trong phần định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

B. Thêm 5 ml acid sulfuric (TT) vào khoảng 2 mg chế phẩm, màu vàng tạo thành.

C. Chế phẩm cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. pH của dung dịch phải từ 2,0 đến 3,0 (Phụ lục 6.2)

Góc quay cực riêng

Phải từ -105° đến -120° tính theo chế phẩm khan và không có ethanol (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol (1 : 99) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Đo góc quay cực trong vòng 5 phút kể từ khi pha dung dịch.

Độ hấp thụ riêng

Độ hấp thụ riêng tại 349 nm phải từ 300 đến 335, tính theo chế phẩm khan và không có ethanol (Phụ lục 4.1).

Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol (1 : 99) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được, thành 100,0 ml với

hỗn hợp *dung dịch acid hydroclorid 1 M - methanol* (1 : 99). Đo độ hấp thụ trong vòng 1 giờ kể từ khi pha dung dịch.

Tạp chất hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 99) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Đo độ hấp thụ của dung dịch trong vòng 1 giờ kể từ khi pha dung dịch, tại bước sóng 490 nm (Phụ lục 4.1). Độ hấp thụ không được lớn hơn 0,07 (tính theo chế phẩm khan và không có ethanol).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Cân 60,0 g *tert-butanol* (TT), chuyển vào bình định mức dung tích 1000 ml với 200 ml *nước*. Thêm 400 ml *dung dịch đệm phosphat pH 8,0* (TT), 50 ml *dung dịch tetra-butylamoni hydrosulfat 1 %* đã được điều chỉnh pH đến 8,0 với *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT) và 10 ml *dung dịch natri edetat 4 %* đã được điều chỉnh pH đến 8,0 với *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT). Thêm *nước* vừa đủ 1000,0 ml.
Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg doxycyclin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20,0 mg 6-epidoxycyclin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20,0 mg metacyclin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Trộn 4,0 ml dung dịch đối chiếu (1); 1,5 ml dung dịch đối chiếu (2) và 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3), pha loãng thành 25,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (TT).

Dung dịch đối chiếu (5): Trộn 2,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và 2,0 ml dung dịch đối chiếu (3), pha loãng thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tinh là styren-divinylbenzen copolymer (8 μm). Nhiệt độ cột 60 °C.

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (4) và dung dịch đối chiếu (5). Thời gian lưu tương đối so

với doxycyclin là: tạp chất E khoảng 0,2; tạp chất D khoảng 0,3; tạp chất C khoảng 0,5 và tạp chất F khoảng 1,2.

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa các pic của tạp chất B (metacyclin, pic thứ nhất) và tạp chất A (6-epidoxycyclin, pic thứ hai) ít nhất phải bằng 1,25. Độ phân giải giữa pic của tạp chất A và của doxycyclin (pic thứ ba) ít nhất phải bằng 2,0 (điều chỉnh nồng độ của *tert-butanol* trong pha động nếu cần).

Hệ số đối xứng của pic doxycyclin không được lớn hơn 1,25.

Yêu cầu:

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Diện tích pic của tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic của tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (2,0 %)

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

Diện tích các pic phụ khác không được lớn hơn 0,25 lần diện tích pic của tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (0,5 %).

Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic của tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (0,1 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (4S,4aR,5S,5aR,6S,12aS)-4-(dimethylamino)-3,5,10,12,12a-pentahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydrotetracen-2-carboxamid (6-epidoxycyclin),

Tạp chất B: (4S,4aR,5S,5aR,12aS)-4-(dimethylamino)-3,5,10,12,12a-pentahydroxy-6-methylen-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydrotetracen-2-carboxamid (metacyclin),

Tạp chất C: (4R,4aR,5S,5aR,6R,12aS)-4-(dimethylamino)-3,5,10,12,12a-pentahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydrotetracen-2-carboxamid (4-epidoxycyclin),

Tạp chất D: (4R,4aR,5S,5aR,6S,12aS)-4-(dimethylamino)-3,5,10,12,12a-pentahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydrotetracen-2-carboxamid (4-epi-6-epidoxycyclin),

Tạp chất E: Oxytetracyclin,

Tạp chất F: (4S,4aR,5S,5aR,6R,12aS)-2-acetyl-4-(dimethylamino)-3,5,10,12,12a-pentahydroxy-6-methyl-4a,5a,6,12a-tetrahydrotetracen-1,11(4H,5H)-dion (2-acetyl-2-decarbamoxyldoxycyclin).

Ethanol

Phải từ 4,3 % đến 6,0 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Pha loãng 0,50 ml *propanol* (TT) thành 1000,0 ml với *nước*.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml với dung dịch chuẩn nội.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,50 ml *ethanol* (TT) thành 100,0 ml với dung dịch chuẩn nội. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với dung dịch chuẩn nội.

Điều kiện sắc ký:

Cột sắc ký với chiều dài 1,5 m và đường kính 4,0 mm được nhồi pha tinh là ethylvinylbenzen-divinylbenzen copolyme (150 μ m đến 180 μ m)

Khí mang: Nitrogen dùng cho sắc ký khí.

Tốc độ dòng: 60 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ: Cột ở 135 °C, buồng tiêm và detector ở 150 °C.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử (1), (2) và dung dịch đối chiếu.

Tính hàm lượng ethanol dựa vào tỷ số diện tích pic đáp ứng của ethanol và pic của chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu.

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

Kim loại nặng

Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2,5 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

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

Dùng 1,20 g chế phẩm.

Tro sulphat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

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

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) như mô tả trong phần Tạp chất liên quan, với thay đổi sau.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Tính hàm lượng doxycyclin dựa vào các diện tích pic của doxycyclin thu được.

Khối lượng phân tử của $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ là 480,9.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong bao bì vô khuẩn, bảo đảm và kín.

Nhãn

Phải ghi rõ nếu chế phẩm không có nội độc tố vi khuẩn.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

Chế phẩm

Viên nang.

NANG DOXYCYCLIN

Capsulae Doxycyclini

Là nang cứng chứa doxycyclin hydroclorid (doxycyclin hyclat).

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

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

Tính chất

Nang cứng, bột thuốc trong nang màu vàng hay vàng nhạt.

Định tính

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy. Khoảng cách giữa cánh khuấy và đáy bình khoảng $4,5 \pm 0,5$ cm.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 30 min.

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

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % lượng doxycyclin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Nước

Không được quá 8,5 % (Phụ lục 10.3).

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

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

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

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

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

Dung dịch phân giải: Chuẩn bị dung dịch doxycyclin hydroclorid chuẩn trong dung môi pha loãng để được

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

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

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (250 $\times$ 4,6 mm) nhồi pha tĩnh hạt copolymer styren-divinylbenzen tròn, cứng (5 - 10 μ m).

Nhiệt độ cột: 60 ± 1 °C.

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

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của 4-epidoxycyclin (sản phẩm phân hủy chính) là 0,4; 6-epidoxycyclin là 0,7 và doxycyclin là 1,0. Độ phân giải giữa pic 4-epidoxycyclin và pic doxycyclin không nhỏ hơn 3,0 và hệ số đối xứng cho pic doxycyclin là không quá 2,0. Tiến hành sắc ký 6 lần với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic doxycyclin không quá 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Ghi lại sắc ký đồ trong khoảng thời gian bằng 1,7 lần thời gian lưu của doxycyclin và xác định diện tích các pic chính.

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

Bảo quản

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

Loại thuốc

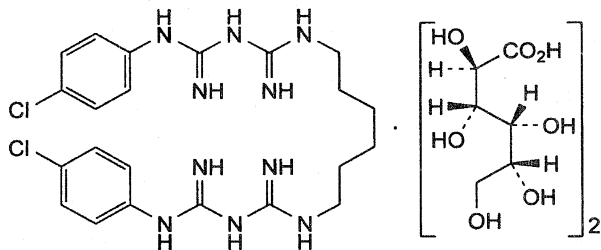
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

100 mg.

DUNG DICH CLORHEXIDIN GLUCONAT

Chlorhexidini digluconatis solutio


$$\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_{10} \cdot 2\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_7$$

P.t.l: 898,0

Dung dịch clorhexidin gluconat là dung dịch trong nước của 1,1'-(hexan-1,6-diyl)bis [5-(4-clorophenyl)-biguanid] di-D-gluconat, phải chứa từ 19,0 % đến 21,0 % $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}.2C_6H_{12}O_7$.

Tính chất

Chất lỏng gần như không màu hoặc có màu vàng nhạt.
Có thể trộn lẫn với nước, tan trong acetone và ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B

Nhóm II: B, C, D

A. Phở hồng ngoại (Phụ lục 4.2): Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 40 ml nước, làm lạnh trong nước đá, kiểm hóa bằng cách vừa khuấy vừa thêm từng giọt dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT), với chỉ thị là giấy vàng titan (TT), sau đó thêm dư 1 ml dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT). Lọc, rửa rửa thu được với nước tới khi dịch rửa hết tính kiềm, kết tinh lại rửa bằng ethanol 70 % (tt/tt) rồi sấy khô ở 100 °C tới 105 °C. Phở hồng ngoại của tua thu được phải phù hợp với phở hồng ngoại của clorhexidin chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - amoniac đậm đặc
- nước - ethanol 96 % (10 : 10 : 30 : 50)

Dung dịch thử: Pha loãng 10,0 ml chế phẩm với nước thành 50 ml.

Dùng dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg calci gluconat chuẩn trong 1 ml nước.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên trên bản mỏng 5 μ l các dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Sấy khô bản mỏng ở 100 °C trong 20 phút, để nguội và phun *dung dịch kali dicromat 5 % trong dung dịch acid sulfuric 40 %*. Sau 5 phút quan sát các vết trên bản mỏng. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử, có cùng màu sắc, vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 40 ml nước, làm lạnh trong nước đá, kiểm hóa bằng cách vừa khuấy vừa thêm từng giọt dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT), với chỉ thị là giấy vàng titan (TT), sau đó thêm dư 1 ml dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT). Lọc, rửa tủa thu được với nước tới khi dịch rửa hết tính kiềm, kết tinh lại tủa bằng ethanol 70 % (tt/tt) rồi sấy khô ở 100 °C tới 105 °C. Tủa thu được nóng chảy (Phụ lục 6.7) trong khoảng từ 132 °C tới 136 °C.

D. Lấy 0,05 ml chế phẩm, thêm 5 ml *dung dịch cetrimid 1 %*, 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và 1 ml *nước brom (TT)*, màu đỏ thẫm được tạo thành.

Tỷ trọng

1,06 đến 1,07 (Phụ lục 6.5). Phương pháp dùng picnomet.

pH

Pha loãng 5,0 ml chế phẩm với *nước không có carbon dioxyl (TT)* thành 100 ml. Dung dịch tạo thành phải có pH từ 5,5 đến 7,0.

Cloroanilin

Không được quá 0,25 %.

Pha loãng 2,0 ml chế phẩm với nước thành 100 ml. Lấy 10 ml dung dịch tạo thành thêm 2,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và pha loãng hỗn hợp với nước thành 20 ml thu được dung dịch thử. Lần lượt thêm nhanh và lắc mạnh sau mỗi lần thêm các dung dịch sau: 0,35 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*, 2 ml *dung dịch amoni sulfamat 5 %*, 5 ml *dung dịch naphthyl ethylendiamin dihydroclorid 0,1 %*, 1 ml *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng hỗn hợp thành 50 ml với nước, để yên 30 phút. Màu lam đỏ của dung dịch tạo thành không được đậm hơn màu của dung dịch được chuẩn bị đồng thời và tương tự như dung dịch thử, nhưng thay 20 ml dung dịch thử bằng hỗn hợp gồm 10 ml dung dịch cloroanilin 0,010 g/l trong *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 10 ml nước.

Tap chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: Hòa tan 2,0 g *natri octansulfonat* trong hỗn hợp gồm 120 ml *acid acetic* băng (TT), 270 ml *nước* và 730 ml *methanol* (TT).

Dụng dịch thử: Pha loãng 5,0 ml dung dịch chế phẩm thành 50,0 ml với pha động. Hút chính xác 5,0 ml dung dịch tạo thành và pha loãng bằng pha động thành 50,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 3,0 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng pha động

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 50 ml bằng pha động

Dung dịch phân giải: Hòa tan 15 mg clorhexidin chuẩn để thử hiệu năng trong pha động cho vừa đủ 10 ml

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (20 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 μm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột bằng pha động ít nhất 1 giờ để cho cột ổn định. Tiêm dung dịch đối chiếu (1), điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ thu được ít nhất là 50 % của thang đo.

Tiêm dung dịch phân giải, phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được giống với sắc ký đồ mẫu của clorhexidin chuẩn để thử hiệu năng, trong đó các pic tạp chất A (1-(4-clorophenyl)-5-[6-(3-cyanoguanidino)-hexyl]biguanid) và pic tạp chất B ([[[6-[5-(4-clorophenyl)guanidino]hexyl]-amino]iminomethyl]-ure) ra trước pic clorhexidin. Nếu cần có thể điều chỉnh nồng độ acid acetic trong pha động (tăng nồng độ acid sẽ làm giảm thời gian lưu).

Tiêm các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2). Đối với các dung dịch đối chiếu (1) và (2), tiến hành sắc ký tới khi clorhexidin rửa giải hoàn toàn. Thời gian chạy đối với dung dịch thử gấp 6 lần thời gian lưu của pic clorhexidin.

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử: tổng diện tích của tất cả các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (3,0 %). Loại bỏ những pic có thời gian lưu nhỏ hơn hoặc bằng 0,25 lần thời gian lưu của pic chính và những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2)

Định lượng

Xác định tỷ trọng của chế phẩm (Phụ lục 6.5). Cân 1,00 g chế phẩm vào cốc có mô dung tích 250 ml và thêm 50 ml acid acetic khan (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 22,44 mg $C_{34}H_{54}Cl_2N_{10}O_{14}$.

Bảo quản

Bảo quản tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Sát trùng.

Chế phẩm

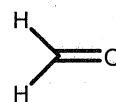
Dung dịch rửa, dung dịch súc miệng.

Gel hỗn hợp clorhexidin và lidocain.

Gel hỗn hợp clorhexidin và lignocain.

DUNG DỊCH FORMALDEHYD

Formaldehydi solutio



CH₂O

P.t.l: 30,03

Dung dịch formaldehyd (35 %) phải chứa từ 34,5 % đến 38,0 % (kl/kl) formaldehyd (CH₂O), có chứa methanol làm chất bảo quản.

Tính chất

Chất lỏng trong, không màu.

Trộn lẫn được với nước và ethanol 96 %. Có thể bị đục trong quá trình bảo quản.

Định tính

A. Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 10 ml bằng nước. Lấy 0,05 ml dung dịch thu được, thêm 1 ml dung dịch muối natri của acid chromotropic 1,5 %, 2 ml nước và 8 ml acid sulfuric đậm đặc (TT). Màu xanh tím hoặc đỏ tím xuất hiện trong vòng 5 phút.

B. Lấy 0,1 ml dung dịch S, thêm 10 ml nước, 2 ml dung dịch phenylhydrazin hydroclorid 1 % mới pha, 1 ml dung dịch kali fericyanid 5 % (TT) và 5 ml acid hydrocloric đậm đặc (TT). Màu đỏ đậm tạo thành.

C. Trộn 0,5 ml chế phẩm với 2 ml nước và 2 ml dung dịch bạc nitrat 2 % (TT) trong ống nghiệm. Thêm dung dịch amoniac 2 M (TT) đến kiểm nhẹ. Đun nóng trên cách thủy. Tủa xám hay gương bạc tạo thành.

D. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu giới hạn hàm lượng.

Màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Pha loãng 10 ml chế phẩm thành 50 ml bằng nước không chứa carbon dioxyd (TT). Lọc nếu cần. Dung dịch S phải không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 1 ml dung dịch phenolphthalein (TT). Lượng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) để làm chuyển màu chỉ thị sang đỏ không được quá 0,4 ml.

Methanol

Từ 9,0 % đến 15,0 % (tt/tt).

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch nội chuẩn: Pha loãng 10 ml ethanol thành 100 ml bằng nước [dùng ethanol có hàm lượng methanol nhỏ hơn 0,005 % (tt/tt) làm nội chuẩn].

Dung dịch chuẩn: Lấy 1 ml methanol (TT), thêm 10 ml dung dịch nội chuẩn và pha loãng thành 100 ml bằng nước.

Dung dịch thử: Lấy 10 ml chế phẩm, thêm 10 ml dung dịch nội chuẩn và pha loãng thành 100 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh dài 1,5 m đến 2,0 m và đường kính trong từ 2 mm đến 4 mm, chất mang là ethylvinylbenzen-divinylbenzen copolymer (150 μ m đến 180 μ m).

Khí mang: Nitrogen dùng cho sắc ký khí, lưu lượng 30 ml/min đến 40 ml/min.

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ: Duy trì nhiệt độ cột ở 120 °C, nhiệt độ buồng tiêm và detector ở 150 °C.

Thể tích tiêm: 1 μ l.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch chuẩn. Điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của các pic không nhỏ hơn 50 % thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với methanol và ethanol ít nhất là 2,0. Tiêm riêng rẽ dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng % của methanol.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

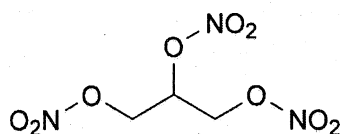
Định lượng

Trong bình định mức dung tích 100 ml có chứa 2,5 ml nước và 1 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), cân 1,000 g chế phẩm vào bình, lắc và thêm nước tới vạch. Lấy 10,0 ml dung dịch, thêm 30,0 ml dung dịch iod 0,1 N (CĐ). Trộn đều và thêm 10 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT). Sau 15 phút, thêm 25 ml dung dịch acid sulfuric 10 % (TT) và 2 ml dung dịch hồ tinh bột (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ).

1 ml dung dịch iod 0,1 N (CĐ) tương đương với 1,501 mg CH₂O.

Bảo quản

Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ từ 15 °C đến 25 °C.

DUNG DỊCH GLYCERYL TRINITRAT**Solutio glycerylis trinitras**

C₃H₅N₃O₉

P.t.l: 227,1

Dung dịch glyceryl trinitrat là dung dịch 1 % (kl/kl) đến 10 % (kl/kl) của propan-1,2,3-triyl trinitrat trong ethanol 96 %. Phải chứa từ 96,5 % đến 102,5 % hàm lượng glyceryl trinitrat ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu hoặc hơi vàng. Có thể trộn lẫn với aceton và ethanol 96 %. Glyceryl trinitrat

nguyên chất thực tế không tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, trộn lẫn với aceton.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, C.

Khi pha loãng dung dịch glyceryl trinitrat phải sử dụng ethanol khan nếu không các giọt glyceryl trinitrat nguyên chất có thể tách khỏi dung dịch.

Sau phép thử, phần cặn và dung dịch còn lại phải được đun nóng cách thủy với dung dịch natri hydroxyd loãng (TT) trong 5 phút.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của glyceryl trinitrat chuẩn. Chuẩn bị mẫu bằng cách nhỏ 50 μ l dung dịch chế phẩm [pha loãng bằng ethanol (TT) để được dung dịch 1 % (kl/tt) glyceryl trinitrat, nếu cần] lên viên nén dẹt kali bromid. Bay hơi dung môi trong chân không.

B. Sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - toluen (20 : 80).

Dung dịch thử: Pha loãng một lượng chế phẩm tương đương với 50 mg glyceryl trinitrat thành 100 ml với aceton (TT).

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,05 ml dung dịch glyceryl trinitrat (TT) thành 1 ml với aceton (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 2/3 chiều dài của bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Phun bản mỏng bằng dung dịch kali iodid - tinh bột (TT) mới pha. Đặt bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm trong 15 phút rồi quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu về giới hạn hàm lượng.

Màu sắc của dung dịch

Pha loãng dung dịch chế phẩm đến nồng độ 1 % với ethanol (TT), nếu cần. Dung dịch phải không được có màu đậm hơn màu của dung dịch màu mẫu V₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Nitrat vô cơ

Không được quá 0,5 % hàm lượng glyceryl trinitrat, tính theo kali nitrat.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel.

Dung môi khai triển: Toluene - aceton - acid acetic băng (60 : 30 : 15).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch chế phẩm. Pha loãng đến nồng độ 1 % với ethanol (TT), nếu cần.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5 mg kali nitrat (TT) trong 1 ml nước rồi pha loãng thành 100 ml bằng ethanol (TT).

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 2/3 chiều dài của bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí đến khi hết acid acetic, phun bằng dung dịch kali iodid - tinh bột (TT). Đặt bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm trong 15 phút rồi quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Bất kỳ vết nào tương ứng với vết nitrat trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - nước (50 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm thử tương ứng với 2 mg glyceryl trinitrat trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,10 g dung dịch glyceryl trinitrat chuẩn và một lượng pentaerythrityl tetranitrat loãng tương ứng với 1,0 mg pentaerythrityl tetranitrat trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lắc siêu âm và lọc nếu cần.

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

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi octadecylsilyl silica gel (5 µm) dùng cho sắc ký.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Ghi sắc đồ trong khoảng thời gian bằng 3 lần thời gian lưu của pic chính. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của glyceryl trinitrat và pic của pentaerythrityl tetranitrat ít nhất là 2,0. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất cứ pic nào, ngoài pic chính, không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1 %, tính theo glyceryl trinitrat) và tổng diện tích của các pic đó không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (3 %, tính theo glyceryl trinitrat). Loại bỏ các pic với diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Định lượng

Dung dịch thử: Lấy chính xác một lượng dung dịch chế phẩm tương ứng với khoảng 1,0 mg glyceryl trinitrat hòa vào methanol (TT) trong bình định mức dung tích 250,0 ml. Thêm methanol (TT) tới vạch.

Dung dịch đối chiếu: Cân chính xác khoảng 70,0 mg natri nitrit (TT) hòa tan vào methanol (TT) trong bình định mức dung tích 250,0 ml. Thêm methanol (TT) tới vạch. Pha loãng 5,0 ml dung dịch trên thành 500,0 ml bằng methanol (TT).

Lần lượt lấy 10,0 ml dung dịch thử, 10,0 ml dung dịch đối chiếu và 10,0 ml methanol (TT) vào 3 bình định mức dung tích 50,0 ml. Thêm vào mỗi bình 5 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT), đầy nắp, trộn đều, rồi để yên ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Thêm 10 ml dung dịch acid sulphanilic (TT) và 10 ml dung dịch acid hydrochloric loãng (TT), trộn đều. Sau đúng 4 phút thêm 10 ml dung dịch naphthylethylendiamin dihydroclorid (TT), pha loãng bằng nước đến vạch và trộn đều. Sau 10 phút, đo độ hấp thụ của mẫu thử và mẫu đối chiếu ở 540 nm, sử dụng dung dịch trong bình định mức có chứa 10,0 ml methanol (TT) làm mẫu trắng.

Tính khối lượng glyceryl trinitrat (mg) trong dung dịch thử bằng công thức:

$$\frac{A_T \times m_S \times C}{A_R \times m_T \times 60,8 \times 100}$$

Trong đó:

A_T là độ hấp thụ của dung dịch thử;

m_T là khối lượng (mg) của glyceryl trinitrat trong dung dịch thử;

C là hàm lượng của natri nitrit pha dung dịch đối chiếu;

A_R là độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu;

m_T là khối lượng cân (mg) của natri nitrit.

Bảo quản

Bảo quản các dung dịch loãng (1 %) tránh ánh sáng ở nhiệt độ từ 2 °C đến 15 °C. Bảo quản các dung dịch đậm đặc hơn tránh ánh sáng ở nhiệt độ từ 15 °C đến 20 °C.

ĐỒNG SULFAT

Cupri sulfas

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

P.t.l: 249,7

Chế phẩm phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Tính chất

Bột kết tinh màu xanh lam hay tinh thể trong màu xanh lam.

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

Định tính

A. Thêm vài giọt dung dịch amoniac 2 M (TT) vào 1 ml dung dịch S, tua màu xanh lam tạo thành. Tua này tan khi cho thêm dung dịch amoniac 2 M (TT) và dung dịch có màu xanh lam đậm.

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

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

Độ trong của dung dịch

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

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2).

Clorid

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).

Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử. Quan sát dọc theo ống nghiệm trên nền đen.

Sắt

Không được quá 0,01 %.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml nước, thêm 2,5 ml acid nitric không có chì (TT) và pha loãng thành 25,0 ml bằng nước.

Dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch chuẩn bằng cách dùng dung dịch sắt mẫu 20 phần triệu (TT), thêm 2,5 ml acid nitric không có chì (TT) và pha loãng thành 25,0 ml bằng nước.

Đo độ hấp thụ ở 248,3 nm, dùng đèn cathod rỗng sắt làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - butan.

Chì

Không được quá 50 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 10,0 ml nước, thêm 2,5 ml acid nitric không có chì (TT) và pha loãng thành 25,0 ml bằng nước.

Dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch chuẩn bằng cách dùng dung dịch chì mẫu 100 phần triệu, thêm 2,5 ml acid nitric không có chì (TT) và pha loãng thành 25,0 ml bằng nước. Đo độ hấp thụ ở 217,0 nm, dùng đèn cathod rỗng chì làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - butan.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 35,0 % đến 36,5 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 250 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 50 ml nước, thêm 2 ml acid sulfuric đậm đặc (TT) và 3 g kali iodid (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ), chỉ thị là 1 ml dung dịch hồ tinh bột (TT) cho vào cuối phép chuẩn độ.

1 ml dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ) tương đương với 24,97 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

ĐỒNG SULFAT KHAN

Cupri sulfas anhydricus

CuSO_4

P.t.l: 159,6

Chế phẩm phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % CuSO_4 , tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu xám xanh, rất hút ẩm.

Dễ tan trong nước, khó tan trong methanol, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Các phép thử A, B, C được tiến hành theo chuyên luận đồng sulfat.

Độ trong của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,6 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 50 ml bằng nước.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2).

Clorid

Không được quá 0,015 % (Phụ lục 9.4.5).

Pha loãng 10 ml dung dịch S với nước thành 15 ml và tiến hành thử. Quan sát dọc theo ống nghiệm trên nền đen.

Sắt

Không được quá 0,015 %.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,32 g chế phẩm trong 10 ml nước, thêm 2,5 ml acid nitric không có chì (TT) và pha loãng thành 25,0 ml bằng nước.

Dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch chuẩn bằng cách dùng dung dịch sắt chuẩn 20 phần triệu, thêm 2,5 ml acid nitric không có chì (TT) và pha loãng thành 25,0 ml bằng nước.

Đo độ hấp thụ ở 248,3 nm, dùng đèn cathod rỗng sắt làm nguồn bức xạ và ngọn lửa acetylen - không khí nén.

Chì

Không được quá 80 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1). Tiến hành theo một trong hai phương pháp dưới đây.

Phương pháp 1

Dung dịch thử: Hòa tan 1,6 g chế phẩm trong 10 ml nước, thêm 2,5 ml acid nitric không có chì (TT) và pha loãng thành 25,0 ml bằng nước.

Dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch chuẩn bằng cách dùng dung dịch chì chuẩn 100 phần triệu, thêm 2,5 ml acid nitric không có chì (TT) và pha loãng thành 25,0 ml bằng nước.

Đo độ hấp thụ ở 217,0 nm, dùng đèn cathod rỗng chì làm nguồn bức xạ và ngọn lửa acetylen - không khí nén.

Phương pháp 2

Dung dịch thử: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml dung dịch acid nitric 1 % [được chuẩn bị bằng cách pha loãng acid nitric không có chì (TT) trong nước khử ion] và pha loãng thành 25 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Pha loãng dung dịch chì chuẩn 1000 phần triệu bằng dung dịch acid nitric 1 % để thu được các dung dịch chì chuẩn có nồng độ lần lượt là 1, 2, 4 phần triệu. Sử dụng các dung dịch này để xây dựng đường chuẩn.

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 217,0 nm trên thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử được trang bị đèn cathod rỗng chì làm nguồn bức xạ và ngọn lửa acetylen - không khí nén. Tính toán hàm lượng chì (theo phần triệu) trong mẫu thử dựa trên đường chuẩn thiết lập và độ hấp thụ đo được của dung dịch thử.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 250 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong 50 ml nước, thêm 2 ml acid sulfuric đậm đặc (TT) và 3 g kali iodid (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CD), chỉ thị là 1 ml dung dịch hồ tinh bột (TT) cho vào cuối phép chuẩn độ.

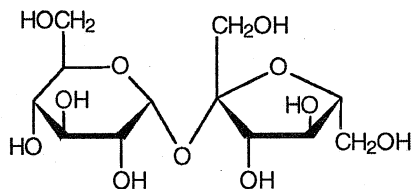
1 ml dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CD) tương đương với 15,96 mg CuSO₄.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

ĐƯỜNG TRẮNG

Saccharum



C₁₂H₂₂O₁₁

P.t.l: 342,3

Đường trắng là β - D - fructofuranosyl α - D - glucopyranosid.

Không chứa chất phụ gia.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hay tinh thể trắng hoặc không màu, khô, bóng. Rất dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ethanol tuyệt đối.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phở hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phở hồng ngoại của đường trắng chuẩn.

B. Tiến hành sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Acid boric bão hòa lạnh - acid acetic 60 % - ethanol tuyệt đối - acetone - ethyl acetat (10 : 15 : 20 : 60 : 60)

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp nước - methanol (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg đường trắng chuẩn trong hỗn hợp nước - methanol (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg mỗi chất chuẩn sau: fructose; glucose; lactose và đường trắng trong hỗn hợp nước - methanol (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μl mỗi dung dịch trên và sấy khô hoàn toàn các vết chấm. Triển khai bản mỏng trong bình sắc ký chưa bão hòa hơi dung môi đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng không khí nóng. Phun dung dịch gồm 0,5 g thymol (TT) trong hỗn hợp có 5 ml acid sulfuric (TT) và 95 ml ethanol 96 % (TT). Sấy bản mỏng ở 130 °C trong 10 phút.

Trên sắc ký đồ dung dịch thử cho vết chính có màu sắc, vị trí và kích thước tương ứng với vết chính của dung dịch đối chiếu (1), phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 4 vết tách riêng rẽ rõ ràng. C. Pha loãng 1 ml dung dịch S (ở phần Độ trong và màu sắc của dung dịch) thành 100 ml bằng nước. Lấy 5 ml dung dịch này thêm 0,15 ml dung dịch đồng (II) sulfat 12,5 % (TT) mới pha và 2 ml dung dịch natri hydroxyd 2 N mới pha. Dung dịch phải trong, xanh và không thay đổi khi đun sôi. Thêm 4 ml dung dịch acid hydrochloric 2 N (TT) vào dung dịch đang nóng trên, đun sôi 1 phút. Thêm 4 ml dung dịch natri hydroxyd 2 N (TT), tủa da cam xuất hiện ngay.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 50,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT), và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Điện dẫn suất

Không được quá 30 μS.cm⁻¹.

Hòa tan 31,3 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Đo độ dẫn điện của dung dịch (C₁), khuấy cẩn thận bằng máy khuấy từ trong khi đo. Đo độ dẫn điện

của nước không có carbon dioxyd (C_2). Kết quả phải ổn định chênh lệch không quá 1 % trong 30 giây.
Tính độ dẫn điện của dung dịch kiểm tra theo công thức sau: $C_1 - 0,35C_2$

Góc quay cực riêng

Từ $+66,3^\circ$ đến $+67,0^\circ$ (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 26,0 g chế phẩm trong nước và thêm nước vừa đủ 100,0 ml, lắc đều.

Chỉ số màu sắc

Không quá 45.

Hòa tan 50,0 g chế phẩm trong 50,0 ml nước, lọc qua màng lọc kích thước 0,45 μm và loại khí. Đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 420 nm (Phụ lục 4.1), sử dụng công đo ít nhất là 4 cm (Chiều dài công đo là 10 cm hoặc hơn 10 cm). Tính chỉ số màu sắc theo công thức sau:

$$\frac{A \times 1000}{b \times c}$$

Trong đó:

A là độ hấp thụ ở bước sóng 420 nm;

b là chiều dài công tính bằng cm;

c là nồng độ dung dịch g/ml tính theo chỉ số khúc xạ của dung dịch (Phụ lục 6.1) ở bảng dưới và nội suy giá trị nếu cần.

STT	n_D^{20}	C (g/ml)
1	1,4138	0,570
2	1,4159	0,585
3	1,4179	0,600
4	1,4200	0,615
5	1,4221	0,630
6	1,4243	0,645
7	1,4264	0,661

Độ lặp lại: Sự khác nhau về độ hấp thụ giữa 2 kết quả không được quá 3.

Dextrin

Nếu chế phẩm dùng để pha dung dịch tiêm truyền thì phải thử chỉ tiêu này.

Lấy 2 ml dung dịch S, thêm 8 ml nước, 0,05 ml dung dịch acid hydrochloric 2 N và 0,05 ml dung dịch iod 0,1 N (CD), dung dịch phải có màu vàng.

Glucose và đường khử

Không được quá 0,04 %.

Lấy 5 ml dung dịch S cho vào ống nghiệm dài khoảng 150 mm và có đường kính khoảng 16 mm. Thêm 5 ml nước, 1,0 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (CD) và 1,0 ml dung dịch xanh methylen 0,1 %. Trộn đều và đặt vào nồi cách thủy. Sau đúng 2 phút, lấy ống nghiệm ra và quan sát dung dịch ngay. Màu xanh của dung dịch không được mất hoàn toàn. Bỏ qua màu xanh ở bề mặt phân cách giữa không khí và dung dịch.

Sulfit

Không được quá 15 phần triệu tính theo SO_2 .

Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 40 ml nước, thêm 2,0 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N và pha loãng thành 50,0 ml bằng nước. Lấy 10,0 ml dung dịch trên, thêm 1 ml dung dịch acid hydrochloric 3 N (TT), 2,0 ml dung dịch fuchsin đã khử màu (TT) và 2,0 ml dung dịch formaldehyd 0,5 % (tt/tt). Để yên 30 phút và đo độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 583 nm.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 76 mg natri metabisulfit trong nước và thêm nước vừa đủ 50,0 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng nước. Lấy 3,0 ml dung dịch này, thêm 4,0 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M và pha loãng với nước thành 100,0 ml. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được, thêm ngay 1 ml dung dịch acid hydrochloric 3 N, 2,0 ml dung dịch fuchsin đã khử màu (TT) và 2,0 ml dung dịch formaldehyd 0,5 % (tt/tt). Để yên 30 phút rồi đo độ hấp thụ ở bước sóng 583 nm.

Mẫu trắng: Lấy 10,0 ml nước và xử lý giống như dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu có màu đỏ tím rõ ràng.

Chì

Không được quá 0,5 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2)

Dung dịch thử: Hòa tan 1,5 g chế phẩm trong 1,5 ml nước cất khử ion trong bình phản ứng. Thêm 0,75 ml dung dịch acid nitric không có chì (TT) và làm nóng từ từ đến từ 90 °C đến 95 °C, tránh làm mất mẫu. Đun nóng khoảng 60 phút, thêm tiếp 0,75 ml dung dịch acid nitric không có chì (TT). Đun nóng tiếp tục cho đến khi khí màu nâu bay hơi hết và màu đỏ của dung dịch không còn nữa (khoảng 60 phút). Làm nguội, thêm từng giọt khoảng 0,5 ml dung dịch nước oxy già (TT) và đun nóng ở 90 °C đến 95 °C trong 15 phút. Làm nguội, thêm tiếp 0,5 ml dung dịch nước oxy già (TT) bằng cách nhỏ từng giọt, đun nóng dung dịch ở nhiệt độ 90 °C đến 95 °C trong 60 phút và làm nguội. Làm lại quá trình trên đến khi dung dịch thu được trong, màu vàng sáng. Pha loãng thành 10 ml bằng nước cất khử ion. Bảo quản trong bình nhựa dày nút kín.

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị 3 dung dịch chuẩn tương tự giống dung dịch thử nhưng thêm riêng biệt 0,5 ml, 1 ml và 1,5 ml dung dịch chì chuẩn 0,5 phần triệu và 1,5 g chế phẩm.

Mẫu trắng: Chuẩn bị mẫu trắng tương tự như dung dịch thử nhưng không có chế phẩm.

Dung dịch nền: Nước cất khử ion.

Thiết bị: Máy quang phổ hấp thụ nguyên tử với lò graphit và hệ thống bơm mẫu tự động và cuvet được bao hoạt hóa nhiệt.

Nguồn: Đèn cathod rỗng hoặc đèn phóng điện không điện cực.

Khí: Sử dụng argon là khí sạch dùng cho quang phổ hấp thụ nguyên tử.

Tốc độ khí: Được điều chỉnh tùy thuộc vào thiết bị; thường từ 200 ml/min tới 300 ml/min.

Bước sóng: 283,3 nm

Phương pháp: Tiêm riêng biệt 20 µl của từng dung dịch sau: dung dịch nền, dung dịch trắng, dung dịch thử, dung dịch chuẩn và thêm ngay 5 µl *dung dịch magnesi nitrat* (chất cải biến nền) vào mỗi dung dịch. Mỗi dung dịch đo lặp lại 3 lần.

Nhiệt độ và thời gian của quá trình tro hóa, nguyên tử hóa phụ thuộc vào thiết bị, hệ thống bổ chính đường nền và loại cuvet... Các thông số trên được chỉ rõ trong sách hướng dẫn sử dụng và có thể điều chỉnh cho phù hợp.

Tăng nhiệt độ của lò theo từng nấc lên 200 °C và duy trì nhiệt độ làm khô ở 200 °C trong 30 giây; nhiệt độ tro hóa là 750 °C trong 40 giây, sau thời gian tăng nhiệt độ là 40 giây và nhiệt độ nguyên tử hóa là 1800 °C trong 10 giây (thời gian tăng nhiệt độ là 0 giây). Làm sạch cuvet ở nhiệt độ 2600 °C trong 7 giây, sau thời gian tăng nhiệt độ là 1 giây.

Tính toán dựa vào giá trị đo được của dung dịch thử và dung dịch chuẩn trừ đi giá trị của mẫu trắng. Nếu cần có thể pha loãng với dung dịch nền để có giá trị đo được nằm trong khoảng tuyến tính.

Sự thích hợp của hệ thống:

Độ lệch chuẩn tương đối là giá trị đọc được của 3 lần đo lặp lại của dung dịch thử và dung dịch chuẩn trừ đi giá trị của mẫu trắng không được lớn hơn 15 %.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.6).

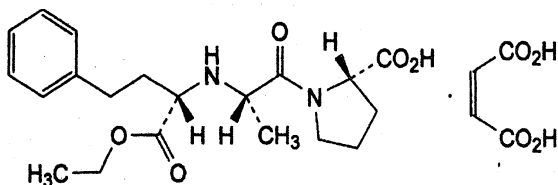
(2,000 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Nội độc tố vi khuẩn

Phải ít hơn 0,25 EU/mg (Phụ lục 13.2). Nếu chế phẩm dùng để pha dung dịch tiêm truyền thì phải thử chỉ tiêu này.

ENALAPRIL MALEAT

Enalapril maleas



$C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$

P.t.l: 492,5

Enalapril maleat là acid (2S)-1-[(2S)-2-[[[(1S)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl] amino] propanoyl] pyrrolidin-2-carboxylic (Z)-butendioat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Hơi tan trong nước, dễ tan trong methanol, thực tế không tan trong dicloromethan, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Điểm chảy khoảng 144 °C (Phụ lục 6.7).

Định tính

Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của enalapril maleat chuẩn.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

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

pH

pH của dung dịch S phải từ 2,4 đến 2,9 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ -48° đến -51°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm A: Hòa tan 2,8 g natri dihydro-phosphat monohydrat (TT) trong 950 ml nước. Điều chỉnh pH của dung dịch thu được đến 2,5 bằng acid phosphoric (TT) và pha loãng thành 1000 ml bằng nước.

Dung dịch đệm B: Hòa tan 2,8 g natri dihydro-phosphat monohydrat (TT) trong 950 ml nước. Điều chỉnh pH của dung dịch thu được đến 6,8 bằng dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT) và pha loãng thành 1000 ml bằng nước.

Pha động:

Pha động A: Acetonitril - dung dịch đệm B (50 : 950).

Pha động B: Dung dịch đệm B - acetonitril (340 : 660).

Pha động được sử dụng theo chương trình dung môi như sau (có thể điều chỉnh nếu cần):

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 20	95 → 40	5 → 60
20 - 25	40	60
25 - 26	40 → 95	60 → 5
26 - 30	95	5

Dung môi hòa tan: Acetonitril - dung dịch đậm A (50 : 950).

Dung dịch thử: Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

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

Dung dịch enalapril diketopiperazin: Cho cẩn thận khoảng 20 mg enalapril maleat chuẩn vào một cốc có mỏ dung tích 100 ml để tạo thành một khối nhỏ ở đáy cốc. Đặt cốc lên một tấm đun ở khoảng 1/2 nhiệt độ tối đa của tấm đun. Đun nóng cốc khoảng 5 phút đến 10 phút cho đến khi khối chất rắn nóng chảy. Ngay lập tức lấy cốc ra và để nguội. (Chú ý: không đun quá nóng để tránh sự phân hủy do nhiệt, mà sự phân hủy này sẽ làm cho khối chất có màu nâu). Thêm 50 ml acetonitril (TT) vào cốc đã được để nguội trong cốc có mỏ ở trên, lắc siêu âm vài phút để hòa tan cần. Dung dịch thu được sẽ chứa từ 0,2 mg đến 0,4 mg enalapril diketopiperazin trong 1 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch enalapril diketopiperazin thành 50 ml bằng dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,1 mm) được nhồi styren - divinylbenzen copolymer (5 μm).

Nhiệt độ cột: 70 °C.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Khi sắc ký đồ được ghi trong điều kiện sắc ký như trên thì thời gian lưu tương đối của enalapril là 1,0 và của enalapril diketopiperazin là khoảng 2,1. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic enalapril và enalapril diketopiperazin ít nhất là 3,5.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, không được có bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %); không được có quá 1 pic phụ có diện tích lớn hơn 0,3 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %); tổng diện tích của tất cả các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (2,0 %). Bỏ qua tất cả các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Kim loại nặng

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

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 2 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 30 ml với cùng dung môi. Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyl 0,1 N (CD). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Lấy điểm kết thúc của phép chuẩn độ tại bước nhảy thứ hai trên đường cong chuẩn độ.

1 ml dung dịch natri hydroxyl 0,1 N (CD) tương đương với 16,42 mg C₂₀H₂₈N₂O₅·C₄H₄O₄.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Tác nhân ức chế men chuyển angiotensin.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN ENALAPRIL

Tabellae Enalaprili

Là viên nén chứa enalapril maleat.

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

Hàm lượng enalapril maleat, C₂₀H₂₈N₂O₅·C₄H₄O₄, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Butan-1-ol - nước - acid acetic băng (60 : 25 : 15).

Dung dịch hiện màu: Hòa tan 0,85 g bismuth nitrat base (TT) trong hỗn hợp 10 ml acid acetic băng (TT) và 40 ml nước. Trộn đồng thể tích của dung dịch thu được và dung dịch kali iodid 40 %. Pha loãng 10 thể tích hỗn hợp này với 20 thể tích acid acetic băng (TT) và 70 thể tích nước ngay trước khi dùng.

Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 20 mg enalapril maleat, thêm 10 ml ethanol 90 % (TT), lắc trong 10 phút, ly tâm. Sử dụng dịch trong ở trên.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch enalapril maleat chuẩn 0,2 % trong ethanol 90 % (TT).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun dung dịch hiện màu, rồi phun tiếp dung dịch hydrog α n peroxyd loãng (TT). Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic enalapril trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch A, pha động, dung dịch đối chiếu (1), dung dịch đối chiếu (2) và các điều kiện sắc ký: Thực hiện như mô tả trong mục Định lượng.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 50 mg enalapril maleat, thêm 50,0 ml dung dịch A, lắc trong 15 phút và ly tâm. Sử dụng dịch trong ở trên.

Dung dịch (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 500 thể tích với dung dịch A.

Dung dịch (2): Pha loãng 3 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20 ml với dung dịch A.

Dung dịch (3): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 20 ml với dung dịch A.

Dung dịch (4): Trộn 1 thể tích dung dịch (2) và 1 thể tích dung dịch (3), pha loãng thành 20 thể tích với dung dịch thử.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch (4). Phép thử chỉ có giá trị khi trong sắc ký đồ thu được, hệ số phân giải giữa pic enalaprilat và pic enalapril diketopiperazin ít nhất là 3,0; hệ số phân giải giữa pic enalapril diketopiperazin và pic enalapril ít nhất là 2,0. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ các thành phần trong pha động.

Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với enalaprilat không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (2) (1,5 %), diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với enalapril diketopiperazin không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (3) (0,5 %), diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (1) (0,3 %). Tổng diện tích pic phụ, ngoài các pic tương ứng với enalaprilat và enalapril diketopiperazin, không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (1) (1,0 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ enalapril maleat khoảng 0,00028 %. Pha dung dịch enalapril maleat chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ chính xác khoảng 0,00028 %. Tiến hành sắc ký như mô tả trong mục Định lượng. Tính hàm lượng enalapril maleat, $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$, đã hòa tan trong mỗi viên.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng enalapril maleat, $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$, so với hàm lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Dung dịch A: Hòa tan 0,136 g kali dihydrophosphat (TT) trong 800 ml nước, điều chỉnh pH tới 2,0 với acid phosphoric (TT) và thêm nước vừa đủ 1000,0 ml.

Pha động: Acetonitril - dung dịch A (40 : 60).

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg enalapril maleat, thêm 50,0 ml dung dịch A, lắc trong 15 phút và ly tâm. Sử dụng dịch trong ở trên.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch enalapril maleat chuẩn 0,02 % trong dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch enalaprilat chuẩn 0,01 % trong dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch enalapril diketopiperazin chuẩn 0,01 % trong dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu (3): Trộn 1 thể tích dung dịch đối chiếu (1) và 1 thể tích dung dịch đối chiếu (2), pha loãng thành 20 thể tích với dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m).

Nhiệt độ cột: 70 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (3). Phép thử chỉ có giá trị khi trong sắc ký đồ thu được hệ số phân giải giữa pic enalaprilat và pic enalapril diketopiperazin ít nhất là 3,0; hệ số phân giải giữa pic enalapril diketopiperazin và pic enalapril ít nhất là 2,0. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ các thành phần trong pha động.

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

Tính hàm lượng enalapril maleat, $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$, trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic enalapril thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$ của enalapril maleat chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

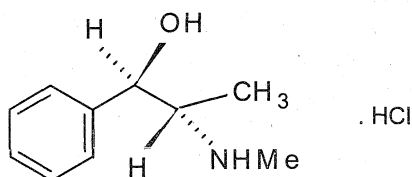
Chống tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng

5 mg; 10 mg; 20 mg.

EPHEDRIN HYDROCLORID

Ephedrini hydrochloridum



$C_{10}H_{15}NO \cdot HCl$

P.t.l: 201,7

Ephedrin hydroclorid là (1R,2S)-2-(methylamino)-1-phenylpropan-1-ol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{10}H_{15}NO \cdot HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể nhỏ không màu hay bột kết tinh trắng. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %. Chảy ở khoảng 219 °C (Phụ lục 6.7).

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, E.

Nhóm II: A, C, D, E. A. Chế phẩm phải đạt yêu cầu trong phép thử "Góc quay cực riêng".

B. Phô hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phô hấp thụ hồng ngoại của ephedrin hydroclorid chuẩn.

C. Trong phép thử "Tập chất liên quan", vết chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

D. Lấy 0,1 ml dung dịch S, thêm 1 ml nước, 0,2 ml dung dịch đồng sulfat 12,5 % (TT) và 1 ml dung dịch natri hydroxyd 42 % sẽ xuất hiện màu tím. Lắc dung dịch này với 2 ml ether (TT): Lóp ether có màu đỏ tía và lóp nước có màu xanh.

E. Lấy 5 ml dung dịch S và thêm 5 ml nước, dung dịch phải cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,00 g chế phẩm trong nước cất và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

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

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml dung dịch đỏ methyl (TT) và 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ).

Dung dịch có màu vàng. Thêm 0,4 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ), dung dịch phải có màu đỏ.

Góc quay cực riêng

Từ -33,5° đến -35,5°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Pha loãng 12,5 ml dung dịch S thành 25,0 ml bằng nước để đo.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - amoniac đậm đặc - 2-propanol (5 : 15 : 80).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg ephedrin hydroclorid chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 200 ml bằng methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và phun bản mỏng với dung dịch ninhydrin (TT). Sấy ở 110 °C trong 5 phút. Ngoài vết chính, bắt cứ vết phụ nào trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1) cũng không được đậm màu hơn vết chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Bỏ qua bất cứ vết nào có màu nhạt hơn màu nền.

Sulfat

Không được quá 100 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 15 ml dung dịch S để thử.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 50 ml ethanol 96 % (TT) và thêm 5,0 ml dung dịch acid hydrocloric

0,01 N (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CĐ) thêm vào giữa 2 điểm uốn.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CĐ) tương đương với 20,17 mg $C_{10}H_{15}NO.HCl$

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Tác nhân beta-adrenergic.

Chế phẩm

Cồn thuốc, thuốc nhỏ mũi, viên nén.

THUỐC TIÊM EPHEDRIN HYDROCLORID

Injectio Ephedrini hydrochloridi

Là dung dịch vô khuẩn của ephedrin hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng của ephedrin hydroclorid, $C_{10}H_{15}NO.HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

A. Lấy 1 thể tích chế phẩm có chứa khoảng 0,1 g ephedrin hydroclorid thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric* 2 M, chiết 2 lần mỗi lần 20 ml *cloroform* (TT) và bỏ lớp cloroform. Kiểm hóa lớp nước với *dung dịch amoniac* 5 M (TT) và chiết 2 lần mỗi lần 30 ml hỗn hợp 3 thể tích *cloroform* (TT) và 1 thể tích *ethanol* (TT). Làm khan dịch chiết với *natri sulfat khan* (TT). Lọc và làm bay hơi dịch lọc tới khô ở áp suất 2 kPa. Đun nóng nhẹ để đuổi hết dung môi. Phổ hấp thụ hồng ngoại của cặn (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của ephedrin.

B. Trong mục Tạp chất liên quan, trên sắc ký đồ thu được, vết chính của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính của dung dịch đối chiếu (2) về vị trí, màu sắc và kích thước.

pH

4,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Propan-2-ol - amoniac đậm đặc - cloroform (80 : 15 : 5)

Dung dịch thử (1): Pha loãng 1 thể tích chế phẩm với nước để thu được dung dịch có chứa ephedrin hydroclorid 0,5 %.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch (1) thành 5 thể tích với *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch (1) thành 200 thể tích với *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch ephedrin hydroclorid chuẩn 0,1 % trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Châm 20 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí rồi phun *dung dịch ninhydrin* 0,2 % (TT), sau đó làm nóng ở 100 °C trong 5 phút. Trên sắc ký đồ thu được, bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử (1) cũng không được đậm hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (1), không kể các vết có màu sáng hơn màu nền của lớp mỏng.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch *diethyl natri sulfosuccinat* 0,005 M trong hỗn hợp 65 thể tích *methanol* (TT), 35 thể tích nước và 1 thể tích *acid acetic* băng (TT).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch ephedrin hydroclorid chuẩn 0,1 % trong *methanol* 65 %.

Dung dịch thử: Pha loãng 1 thể tích chế phẩm với *methanol* 80 % để thu được dung dịch có chứa ephedrin hydroclorid 0,1 %.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tinh C (10 µm) (Nucleosil C18 là phù hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 263 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

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

Tính hàm lượng ephedrin hydroclorid, $C_{10}H_{15}NO.HCl$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{10}H_{15}NO.HCl$ trong ephedrin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc giống thần kinh giao cảm.

Nồng độ thường dùng

1 %.

VIÊN NÉN EPHEDRIN HYDROCLORID

Tabellae Ephedrini hydrochloridi

Là viên nén chứa ephedrin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ephedrin hydroclorid, $C_{10}H_{15}NO.HCl$, từ 92,5% đến 107,5% so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng, không mùi.

Định tính

A. Lắc 1 lượng bột viên có chứa 0,1 g ephedrin hydroclorid với 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lọc, rửa dịch lọc 2 lần, mỗi lần 20 ml *cloroform (TT)* và bỏ lớp cloroform. Kiểm hóa lớp nước với *dung dịch amoniac 5 M (TT)* và chiết 2 lần mỗi lần 30 ml hỗn hợp 3 thể tích *cloroform (TT)* và 1 thể tích *ethanol (TT)*. Làm khan hỗn hợp dịch chiết với *natri sulfat khan (TT)*. Lọc và làm bay hơi dịch lọc tới khi còn một thể tích nhỏ ở áp suất 2 kPa. Sử dụng 0,3 g *kali bromid (TT)* để chuẩn bị đĩa, thấm dịch cloroform thu được lên bề mặt của đĩa và làm nóng ở 50 °C trong 2 phút. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của ephedrin.

B. Trong mục thử Tap chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính của dung dịch đối chiếu (2) về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Nghiền một lượng bột viên có chứa 0,4 g ephedrin hydroclorid với 2 lần mỗi lần 10 ml *cloroform (TT)* và bỏ lớp cloroform. Ngâm cặn còn lại với 30 ml *ethanol 96 % (TT)* nóng trong 20 phút, lọc, làm bay hơi dịch lọc tới khô trên nồi cách thủy và sấy khô cặn ở 80 °C. Hòa tan khoảng 10 mg cặn trong 1 ml *nước* và thêm 0,1 ml *dung dịch đồng sulfat 10 % (TT)*, sau đó thêm 1 ml *natri hydroxyd 5 M (TT)*; màu tím được tạo thành. Thêm 1 ml *ether (TT)* và lắc, lớp ether có màu tím đỏ và lớp nước có màu xanh.

Tap chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Propan-2-ol - amoniac đậm đặc - cloroform (80 : 15 : 5).

Dung dịch thử (1): Chiết một lượng bột viên có chứa 0,1 g ephedrin hydroclorid với 5 ml *methanol (TT)* và lọc.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch (1) tới 10 thể tích với *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch (1) tới 200 thể tích với *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Ephedrin hydroclorid chuẩn 0,2 % trong *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng trong không khí rồi phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)*, sau đó làm nóng ở 110 °C trong 5 phút. Bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử (1) cũng không được đậm hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (1), không kể các vết có màu sáng hơn màu nền của bản mỏng.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch dioctyl natri sulfosucinat 0,005 M trong hỗn hợp gồm 65 thể tích *methanol (TT)*, 35 thể tích *nước* và 1 thể tích *acid acetic băng (TT)*.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch ephedrin hydroclorid chuẩn 0,1% trong *methanol 60%*.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg ephedrin hydroclorid, lắc với 30 ml *methanol (TT)* trong 10 phút. Lọc qua giấy lọc sợi thủy tinh (Whatman GF/C là phù hợp) vào một bình định mức 50 ml, rửa giấy lọc bằng *nước*, chuyển nước rửa vào trong bình định mức và thêm *nước* tới định mức, trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tinh C (10 µm) (Nucleosil C18 là phù hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 263 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành :

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

Tính hàm lượng ephedrin hydroclorid, $C_{10}H_{15}NO.HCl$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{10}H_{15}NO.HCl$ trong ephedrin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc giống thần kinh giao cảm.

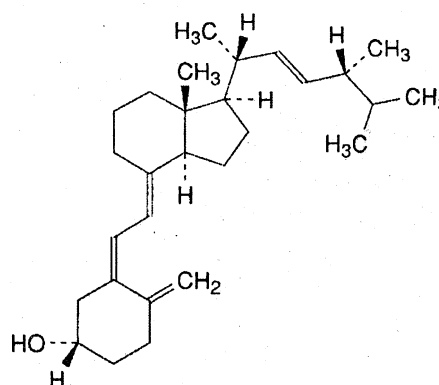
Hàm lượng thường dùng

10 mg.

ERGOCALCIFEROL

Ergocalciferolum

Calciferol, vitamin D₂



$C_{28}H_{44}O$

P.t.l: 396,7

Ergocalciferol là (5Z, 7E, 22E) - 9,10 secoergosta - 5, 7, 10 (19), 22 - tetraen - 3 β - ol, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % C₂₈H₄₄O.

Tính chất

Tinh thể trắng hoặc hầu như trắng, hoặc bột kết tinh trắng hoặc hơi vàng, nhạy cảm với không khí, nhiệt độ và ánh sáng. Trong dung dịch phụ thuộc vào nhiệt độ và thời gian có thể xảy ra hiện tượng đồng phân hóa trở lại, tạo thành pre-ergocalciferol.

Dễ tan trong ethanol 96 %, tan trong dầu béo, thực tế không tan trong nước.

Dung dịch trong dung môi bay hơi không bền nên cần dùng ngay.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C.

Nhóm II: A, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ergocalciferol chuẩn.

B. Trong phép thử ergosterol, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Điểm chảy 112 °C đến 117 °C (Phụ lục 6.7), khi xác định không cần tán thành bột và sấy khô.

Góc quay cực riêng

Từ +103° đến +107° (Phụ lục 6.4).

Hòa tan nhanh không làm nóng 0,200 g chế phẩm trong ethanol không có aldehyd (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi, đo trong vòng 30 phút, dùng ống 2 dm.

Ergosterol

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ether không có peroxyd (1 : 1), hỗn hợp này có chứa 0,01 % butyl-hydroxy toluen (TT).

Dung môi hòa tan: Ethylen clorid (TT) có chứa 1,0 % squalan (TT) và 0,01 % butyl-hydroxytoluen (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,10 g ergocalciferol chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 2 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg ergosterol chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2).

Tất cả các dung dịch trên chỉ pha trước khi dùng.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên, riêng dung dịch đối chiếu (3) châm 20 μ l. Triển khai sắc ký ngay, trong điều kiện tránh ánh

sáng đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun 3 lần dung dịch thuốc thử antimony trichlorid (TT). Quan sát sắc ký đồ trong 3 phút đến 4 phút sau khi phun. Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử ban đầu có màu vàng da cam, sau đó trở thành nâu. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bắt kỳ vết có màu tím nào dưới vết chính (tương ứng với ergosterol và xuất hiện chậm hơn) thì không được đậm màu hơn vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Trong sắc ký đồ của dung dịch thử, ngoài các vết tương ứng với các vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2) không được phép có các vết khác. Phép thử chỉ có giá trị khi trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho hai vết tách nhau rõ ràng.

Tạp chất khử

Không được quá 20 phần triệu.

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong ethanol không có aldehyd (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Thêm 0,5 ml dung dịch tetrazolium xanh 0,5 % trong ethanol không có aldehyd và 0,5 ml dung dịch tetramethylamoni hydroxyd loãng (TT). Để yên đúng 5 phút và thêm 1,0 ml acid acetic băng (TT). Song song chuẩn bị dung dịch đối chiếu như trên với 10,0 ml dung dịch có chứa 0,2 μ g hydroquinon trong 1 ml ethanol không có aldehyd (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của hai dung dịch thu được ở trên ở bước sóng 525 nm. Mẫu trắng là 10,0 ml ethanol không có aldehyd (TT) và được xử lý tương tự như mẫu thử. Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Tiến hành định lượng càng nhanh càng tốt, tránh ánh sáng quang hóa và không khí.

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hexan - pentanol (997 : 3).

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 10,0 ml toluen (TT) không làm nóng rồi pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch chuẩn: Cũng được chuẩn bị theo cách trên nhưng dùng 10,0 mg ergocalciferol chuẩn thay cho chế phẩm.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 0,5 g coledalciferol chuẩn dùng cho phép thử hiệu năng trong 2 ml toluen (TT) và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động, đun hồi lưu trong cách thủy ở 90 °C trong 45 phút rồi làm lạnh.

Điều kiện sắc ký:

Cột (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi silica gel thích hợp (5 đến 10 μ m).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Cách tiến hành:

Tiêm một thể tích thích hợp dung dịch phân giải và ghi sắc ký đồ, điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic colecalciferol lớn hơn 50 % độ cao của thang đo. Tiêm tất cả 6 lần. Khi các sắc ký đồ ghi được trong những điều kiện đã mô tả, các thời gian lưu tương đối là khoảng 0,4 đối với pre-colecalciferol, 0,5 đối với trans-colecalciferol và 1,0 đối với colecalciferol. Độ lệch chuẩn tương đối của colecalciferol không được lớn hơn 1 % và hệ số phân giải đối với pre-colecalciferol và trans-colecalciferol không được nhỏ hơn 1,0. Nếu cần thiết thì điều chỉnh tỷ lệ các thành phần và tốc độ dòng của pha động để đạt được độ phân giải trên.

Tiêm một thể tích thích hợp dung dịch chuẩn và ghi sắc ký đồ, điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao pic ergocalciferol lớn hơn 50 % độ cao của thang đo.

Tiêm cùng thể tích dung dịch thử và ghi sắc ký đồ.

Tính hàm lượng phần trăm của $C_{28}H_{44}O$ từ biểu thức:

$$\frac{100 \times W_2 \times S_1}{W_1 \times S_2}$$

Trong đó:

W_1 là khối lượng tính bằng mg của chế phẩm có trong dung dịch thử;

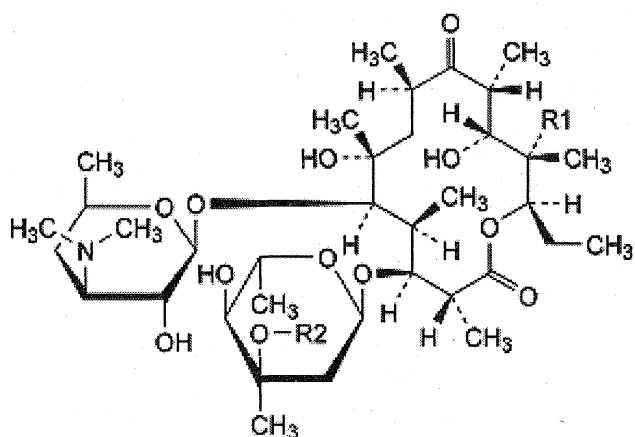
W_2 là khối lượng tính bằng mg của ergocalciferol chuẩn trong dung dịch chuẩn;

S_1 là diện tích pic (hoặc chiều cao) của ergocalciferol trên sắc ký đồ của dung dịch thử;

S_2 là diện tích pic (hoặc chiều cao) của ergocalciferol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Ergocalciferol cần được bảo quản trong bình kín chứa khí nitơ, tránh ánh sáng và để ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, lượng thuốc trong lọ kín khi mở ra cần được sử dụng ngay.

ERYTHROMYCIN**Erythromycinum**

Erythromycin	Công thức phân tử	R1	R2	P.t.l
A	$C_{37}H_{67}NO_{13}$	OH	CH ₃	734
B	$C_{37}H_{67}NO_{12}$	H	CH ₃	718
C	$C_{36}H_{65}NO_{13}$	OH	H	720

Erythromycin là một hỗn hợp các kháng sinh họ macrolid được sản xuất bằng cách nuôi cấy chủng *Streptomyces erythreus*, thành phần chính là (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11R,12R,13S,14R)-4-[(2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- α -L-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[(3,4,6-trideoxy-3-dimethylamino- β -D-xylo-hexopyranosyl)-oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion (erythromycin A).

Hàm lượng: Tổng hàm lượng của erythromycin A, erythromycin B và erythromycin C từ 93,0 % đến 102,0 %, tính theo chế phẩm khan.

Erythromycin B: Không quá 5,0 %

Erythromycin C: Không quá 5,0 %.

Tính chất

Bột màu trắng hay hơi vàng hoặc tinh thể không màu hay màu hơi vàng, hơi hút ẩm.

Ít tan trong nước (độ tan giảm đi khi nhiệt độ tăng), dễ tan trong ethanol 96 %, tan trong methanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của erythromycin chuẩn. Bỏ qua vùng từ 1980 cm^{-1} đến 2050 cm^{-1} . Nếu phổ hồng ngoại của mẫu thử và mẫu chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng biệt 50 mg chế phẩm và 50 mg erythromycin chuẩn trong 1,0 ml *methylen clorid* (TT), sấy ở 60 °C ở áp suất không quá 670 Pa trong 3 giờ, ghi phổ mới các cần thu được.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Trộn hỗn hợp 2- *propanol* - *dung dịch amoni acetat* 15 % đã được điều chỉnh đến pH 9,6 bằng *amoniac* - *ethyl acetat* (4 : 8 : 9). Để ổn định và lấy lớp trên.

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg erythromycin A chuẩn trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg spiramycin chuẩn trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng hai phần ba bản mỏng. Để bản mỏng khô ngoài không khí, sau đó phun lên bản mỏng *dung dịch anisaldehyd trong ethanol (TT)*, sấy ở 110 °C trong 5 phút.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và vị trí, màu sắc phải khác với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

C. Lấy khoảng 5 mg chế phẩm, thêm 5 ml *dung dịch xanthidrol 0,02 %* trong một hỗn hợp gồm *acid hydrochloric - acid acetic (1 : 99)*, đun nóng trên cách thủy, màu đỏ sẽ xuất hiện.

D. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrochloric 7 M (TT)* và để yên 10 phút đến 20 phút, màu vàng sẽ xuất hiện.

Góc quay cực riêng

Từ -71° đến -78°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Tiến hành đo góc quay cực riêng của dung dịch ít nhất 30 phút sau khi chuẩn bị.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Lấy 50 ml *dung dịch dikali hydrophosphat 3,5 %* được điều chỉnh tới pH 9,0 ± 0,05 bằng *acid phosphoric loãng (TT)*, thêm 400 ml nước, 165 ml 2-methyl-2-propanol (TT), 30 ml acetonitril (TT) và pha loãng với nước thành 1000 ml.

Dung môi hòa tan: Hỗn hợp methanol - dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (1 : 3).

Dung dịch thử: Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40,0 mg erythromycin A chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg erythromycin B chuẩn và 10,0 mg erythromycin C chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg N-demethylerythromycin A chuẩn trong dung dịch đối chiếu (2). Thêm 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 25 ml với dung dịch đối chiếu (2).

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 3,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml với dung môi hòa tan.

Dung dịch đối chiếu (5): Chuyển 40 mg erythromycin A chuẩn vào một chén thủy tinh và dàn đều thành một lớp

bột dày không quá 1 mm. Sấy ở 130 °C trong 4 giờ. Để nguội và pha trong dung môi hòa tan thành 10 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) pha tĩnh là styren - divinylbenzen copolymer (TT) dùng cho sắc ký (8 µm) với kích thước lỗ xốp 100 nm, nhiệt độ cột 70 °C (đặt cột và ít nhất một phần ba dây dẫn trước cột trong nồi cách thủy).

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Thể tích tiêm: 100 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3), (4) và (5). Thời gian sắc ký bằng 5 lần thời gian lưu của pic erythromycin A.

Thời gian lưu tương đối so với erythromycin A (thời gian lưu khoảng 15 phút) của tạp chất A khoảng 0,3; tạp chất B khoảng 0,45; erythromycin C khoảng 0,5; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất D khoảng 1,4; tạp chất F khoảng 1,5; erythromycin B khoảng 1,8 và tạp chất E khoảng 4,3.

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa các pic tương ứng với tạp chất B và erythromycin C không được nhỏ hơn 0,8; giữa các pic tương ứng với tạp chất B và erythromycin A không được nhỏ hơn 5,5. Nếu cần, điều chỉnh nồng độ của 2-methyl-2-propanol trong pha động hay giảm tốc độ dòng xuống còn 1,5 ml hay 1,0 ml/min.

Hệ số hiệu chỉnh: Khi tính hàm lượng, diện tích pic của các tạp sau được nhân với hệ số hiệu chỉnh tương ứng (dùng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) để xác định các tạp đó): Tạp chất E = 0,09 và tạp chất F = 0,15.

Giới hạn:

Từng tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (3,0 %).

Tổng các tạp chất không được lớn hơn 2,3 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (7,0 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,02 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (4) (0,06 %), các pic tương ứng với erythromycin B và erythromycin C.

Ghi chú:

Tạp chất A: Erythromycin F.

Tạp chất B: N-demethylerythromycin A.

Tạp chất C: Erythromycin E.

Tạp chất D: Anhydroerythromycin A.

Tạp chất E: Erythromycin A enol ether.

Tạp chất F: Pseudoerythromycin A enol ether.

Thiocyanat

Không được quá 0,3 %.

Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng chiếu trực tiếp.

Dung dịch mẫu trắng: Pha loãng 1,0 ml *dung dịch sắt (III) clorid 9 %* thành 50,0 ml với *methanol (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g (m g) chế phẩm trong 20 ml *methanol (TT)*, thêm 1,0 ml *dung dịch sắt (III) clorid 9 %* và pha loãng thành 50,0 ml với *methanol (TT)*.

Chuẩn bị hai dung dịch đối chiếu riêng rẽ:

Dung dịch đối chiếu : Hòa tan 0,100 g *kali thiocyanat (TT)* đã sấy ở 105 °C trong 1 giờ trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml *dung dịch gốc* này thành 50,0 ml với *methanol (TT)*. Lấy 5,0 ml *dung dịch trên*, thêm 1,0 ml *dung dịch sắt (III) clorid 9 %* và pha loãng thành 50,0 ml với *methanol (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của từng *dung dịch đối chiếu (D₁, D₂)* và *dung dịch thử (D)* ở bước sóng cực đại khoảng 492 nm.

Giá trị phù hợp:

$$S = \left(\frac{D_1}{m_1} \right) \times \left(\frac{m_2}{D_2} \right)$$

Trong đó m_1 , m_2 là khối lượng tính theo g của *kali thiocyanat* được dùng để chuẩn bị các *dung dịch đối chiếu* tương ứng.

Phép thử chỉ có giá trị khi S từ 0,985 đến 1,015.

Tính hàm lượng % của *thiocyanat* theo công thức sau:

$$\left(\frac{58,08}{97,18} \right) \times \left(\frac{D}{m} \right) \times (0,5) \times \left[\left(\frac{m_1}{D_1} \right) + \left(\frac{m_2}{D_2} \right) \right]$$

58,08 là khối lượng phân tử của phân *thiocyanat*.

97,18 là khối lượng phân tử của *kali thiocyanat*.

Nước

Không quá 6,5 % (Phụ lục 10.3). Dùng 0,200 g chế phẩm.

Sử dụng *dung dịch imidazol 10 % trong methanol khan* làm dung môi hòa tan.

Tro sulfat

Không quá 0,2 % (Phụ lục 9.9).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Điều kiện sắc ký: Như mô tả trong mục "Tập chất liên quan" với sự thay đổi sau:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống:

Tiêm 6 lần *dung dịch đối chiếu (1)*, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic *erythromycin A* không lớn hơn 1,2 %.

Tiêm *dung dịch thử*, *dung dịch đối chiếu (1)* và (2).

Tính hàm lượng % của *erythromycin A* trong *dung dịch thử* dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ *dung dịch đối chiếu (1)*. Tính hàm lượng % của *erythromycin B* và *erythromycin C* trong *dung dịch*

thử dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ *dung dịch đối chiếu (2)*.

Bảo quản

Trong chai lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm macrolid.

Chế phẩm

Viên nén, viên nang, viên bao, thuốc tiêm, thuốc mỡ tra mắt, *dung dịch bôi ngoài*, *kem bôi ngoài*.

VIÊN NÉN ERYTHROMYCIN

Tabellae Erythromycini

Là viên nén bao tan trong ruột chứa *erythromycin*.

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

Hàm lượng erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao phải nhẵn, không nứt cạnh, không dính tay, đồng đều về màu sắc. Viên nhân có màu trắng.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên có chứa khoảng 0,1 g *erythromycin* với 5 ml *cloroform (TT)* (nếu bột viên có màu, lắc thêm cùng than hoạt), lọc lấy dịch lọc và bốc hơi đến khô. Phổ hồng ngoại của cặn phải phù hợp với phổ hồng ngoại của *erythromycin* chuẩn (Phụ lục 4.2).

B. Lấy một lượng bột viên có chứa khoảng 3 mg *erythromycin*, thêm 2 ml *aceton (TT)*, lắc kỹ và thêm 2 ml *acid hydrocloric đậm đặc (TT)*. Xuất hiện màu vàng cam, rồi chuyển sang màu đỏ tím đậm. Thêm 2 ml *cloroform (TT)* và lắc kỹ, để yên cho tách lớp, lớp *cloroform* có màu tím.

Độ rã

Chế phẩm phải đáp ứng phép thử độ rã của viên bao tan trong ruột (Phụ lục 11.7), nhưng thời gian thử trong môi trường acid là 60 phút.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

Cân chính xác khoảng 0,1 g bột thuốc, sấy trong chân không ở 60 °C trong 3 giờ.

Định lượng

Cân 20 viên (loại bỏ vỏ bao), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 25 mg *erythromycin* vào bình định mức *dung tích 100 ml*. Thêm 50 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ và thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch. Tiến hành định lượng theo chuyên luận "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).

Tính hàm lượng của erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, trong viên.

Cứ 1000 IU tìm thấy tương ứng với 1 mg $C_{37}H_{67}NO_{13}$.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hoặc trong chai lọ nút kín.
Đề nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

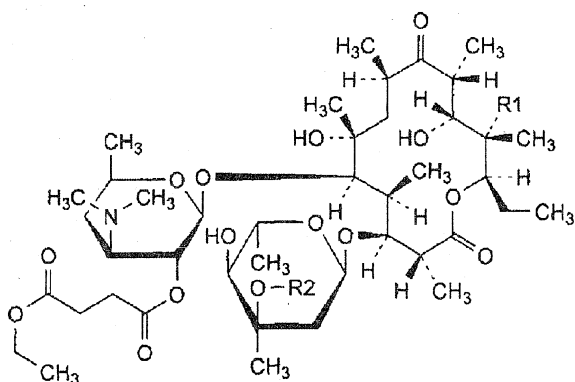
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg; 500 mg.

ERYTHROMYCIN ETHYL SUCINAT

Erythromycini ethyl succinas



Thành phần ethyl succinat	Công thức phân tử	R1	R2	P.t.l
Erythromycin A	$C_{43}H_{75}NO_{16}$	OH	CH_3	862
Erythromycin B	$C_{43}H_{75}NO_{15}$	H	CH_3	846
Erythromycin C	$C_{42}H_{73}NO_{16}$	OH	H	848

$C_{43}H_{75}NO_{16}$

P.t.l: 862,0

Erythromycin ethyl succinat chứa thành phần chính là (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- α -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-2-*O*-(4-ethoxy-4-oxobutanoyl)- β -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion (erythromycin A ethylsuccinat).

Hàm lượng

Tổng hàm lượng erythromycin A, erythromycin B và erythromycin C không được ít hơn 78,0 % tính theo chế phẩm khan.

Erythromycin B: Không được quá 5,0 % tính theo chế phẩm khan.

Erythromycin C: Không được quá 5,0 % tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, dễ hút ẩm. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton, trong ethanol và methanol.

Định tính

Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của erythromycin ethyl succinat chuẩn.

Góc quay cực riêng

Từ -70° đến -82° , tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *aceton* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi, đo góc quay cực sau ít nhất 30 phút kể từ khi chuẩn bị dung dịch thử.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3)

Pha động: Lấy 50 ml dung dịch *dikali hydrophosphat* 3,5 % đã được điều chỉnh pH đến 8,0 bằng dung dịch *acid phosphoric* 10 % (TT), thêm 400 ml nước, 165 ml 2-methyl-2-propanol (TT) và 30 ml *acetonitril* (TT), pha loãng thành 1000 ml bằng nước. Lọc và đuổi khí.

Dung dịch thủy phân: Dung dịch *dikali hydrophosphat* 2,0 % được điều chỉnh pH đến 8,0 bằng *acid phosphoric* (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,115 g chế phẩm trong 25 ml *methanol* (TT), thêm 20 ml dung dịch thủy phân, trộn đều và để yên ở nhiệt độ phòng trong ít nhất 12 giờ. Pha loãng thành 50,0 ml bằng dung dịch thủy phân.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40,0 mg erythromycin A chuẩn trong 10 ml *methanol* (TT) và pha loãng thành 20,0 ml với dung dịch thủy phân.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg erythromycin B chuẩn và 10,0 mg erythromycin C chuẩn trong 50 ml *methanol* (TT). Thêm 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 100,0 ml bằng dung dịch thủy phân.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 2 mg N-demethylerythromycin A chuẩn (tạp chất B) trong 20 ml dung dịch đối chiếu (2).

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 3,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích của *methanol* (TT) và dung dịch thủy phân.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 40 mg erythromycin A chuẩn đã được sấy ở 130°C trong 3 giờ trong 10 ml *methanol* (TT), pha loãng thành 20 ml với dung dịch thủy phân.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là styren-divinylbenzen copolymer (8 μm , kích thước lỗ 100 nm), duy trì nhiệt độ cột ở 70°C (đặt cột và ít nhất một phần ba dây dẫn trước cột trong nồi cách thủy).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 200 μ l.

Tiến hành: Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (3), dung dịch đối chiếu (4) và dung dịch đối chiếu (5). Tiến hành sắc ký với thời gian rửa giải gấp 5 lần thời gian lưu của erythromycin A, lấy tích phân sau khi xuất hiện pic của dung dịch thủy phân.

Thời gian lưu tương đối: Thời gian lưu tương đối so với erythromycin A (thời gian lưu khoảng 15 phút) của pic dung dịch thủy phân phải nhỏ hơn 0,3, của tạp chất B khoảng 0,45; của erythromycin C khoảng 0,5; tạp chất C (erythromycin E) khoảng 0,9; tạp chất G (erythromycin N-ethyl succinat) khoảng 1,3; tạp chất D (anhydroerythromycin A) khoảng 1,4; tạp chất F (pseudoerythromycin A enol ether) khoảng 1,5; của erythromycin B khoảng 1,8 và của tạp chất E (erythromycin A enol ether) khoảng 4,3.

Độ thích hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch đối chiếu (3). Độ phân giải giữa pic của tạp chất B và pic của erythromycin C ít nhất phải bằng 0,8; giữa pic của tạp chất B và pic của erythromycin A ít nhất phải bằng 5,5.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính toán hàm lượng các tạp chất, nhân diện tích pic của các tạp chất với hệ số hiệu chỉnh tương ứng. Tạp chất E hệ số hiệu chỉnh bằng 0,09; tạp chất F bằng 0,15 và tạp chất G bằng 0,14. Dùng dung dịch đối chiếu (5) để xác định pic của tạp chất E và F.

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

Tổng diện tích các pic tạp không được lớn hơn 1,67 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (4) (5,0 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,02 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (4) (0,06 %).

Erythromycin tự do

Không được quá 6,0 %.

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn 35 thể tích *acetonitril* (TT) với 65 thể tích dung dịch có chứa 0,34 % *kali dihydrophosphat* (TT) và 0,20 % *triethylamin* (TT) đã được điều chỉnh pH đến 3,0 bằng *dung dịch acid phosphoric 2 M* (TT). Lọc và đuổi khí.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *acetonitril* (TT), pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 75,0 mg erythromycin A chuẩn trong *acetonitril* (TT) và pha loãng thành 50,0 ml

với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là octylsilyl silica gel (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 195 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Tiến hành: Tiêm dung dịch thử, tiến hành sắc ký với thời gian rửa giải gấp 2 lần thời gian lưu của erythromycin ethyl succinat (thời gian lưu khoảng 24 phút). Tiêm dung dịch đối chiếu, tiến hành sắc ký với thời gian rửa giải gấp 2 lần thời gian lưu của erythromycin A (thời gian lưu khoảng 8 phút).

Giới hạn: Diện tích pic của erythromycin tự do không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu.

Nước

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3)

Dùng 0,30 g chế phẩm và dung dịch có chứa 10,0 % *imidazol* (TT) trong *methanol khan* (TT) làm dung môi.

Tro sulfat

Không được quá 0,3 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3). Pha động, dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (2), điều kiện sắc ký theo chỉ dẫn trong phần thử Tạp chất liên quan.

Độ thích hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của 6 lần tiêm lặp lại dung dịch đối chiếu (1) không được lớn hơn 1,2 %.

Tính toán hàm lượng của erythromycin A dùng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Tính toán hàm lượng của erythromycin B và erythromycin C dùng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

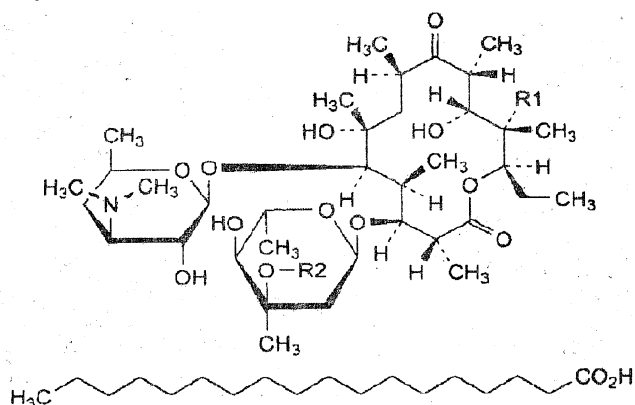
Kháng sinh nhóm macrolid.

Chế phẩm

Hỗn dịch uống, viên nén.

ERYTHROMYCIN STEARAT

Erythromycini stearas



Erythromycin	Công thức	R ₁	R ₂
A	C ₅₅ H ₁₀₃ NO ₁₅	OH	CH ₃
B	C ₅₅ H ₁₀₃ NO ₁₄	H	CH ₃
C	C ₅₄ H ₁₀₁ NO ₁₅	OH	H

Erythromycin stearat là hỗn hợp các muối stearat của erythromycin và acid stearic. Thành phần chính là octadecanoat của (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11R,12R,13S, 14R)-4-[(2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl-α-L-ribo- hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-xylo-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion (erythromycin A stearat).

Hàm lượng

Tổng hàm lượng erythromycin A, erythromycin B và erythromycin C ít nhất phải bằng 60,5 % (tính theo chế phẩm khan).

Erythromycin B: không được quá 5,0 %.

Erythromycin C: không được quá 5,0 %.

Tính chất

Bột kết tinh trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong aceton và trong methanol. Dung dịch có thể vẩn đục.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của erythromycin stearat chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Hỗn hợp 2-propanol - Dung dịch amoni acetat 15 % đã điều chỉnh pH đến 9,6 bằng amoniac - ethyl acetat (4 : 8 : 9). Để yên và dùng lớp trên.

Dung dịch thử: Hòa tan 28 mg chế phẩm trong 10 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg erythromycin A chuẩn trong 10 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg acid stearic (TT) trong 10 ml methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 2/3 chiều dài bản mỏng. Làm khô bản mỏng ngoài không khí.

Phát hiện A: Phun bản mỏng với dung dịch có chứa 0,02 % diclorofluorescein (TT) và 0,01 % rhodamin B (TT) trong ethanol 96 % (TT). Để bản mỏng tiếp xúc với hơi trên nồi cách thủy trong vài giây. Kiểm tra bản mỏng dưới ánh sáng đèn tử ngoại 365 nm.

Trên sắc ký đồ dung dịch thử cho hai vết, một vết có vị trí tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1), một vết tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Phát hiện B: Phun bản mỏng với dung dịch anisaldehyd trong ethanol (TT), sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 phút, kiểm tra dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho một vết tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước.

Acid stearic tự do

Không được quá 14,0 % C₁₈H₃₆O₂, tính theo chế phẩm khan.

Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong methanol (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ), xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Tính thể tích dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ) cần thiết cho 1 g chế phẩm (n₁ ml).

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 30 ml methylen clorid (TT). Nếu dung dịch bị đục, lọc lấy dịch lọc. Lắc phần cần 3 lần, mỗi lần với 25 ml methylen clorid (TT), lọc, tráng phễu lọc với methylen clorid (TT). Gộp các dịch lọc, và dịch rửa, bốc hơi trên cách thủy còn 30 ml. Thêm 50 ml acid acetic băng (TT), chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ), xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Tính thể tích dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) cần thiết cho 1 g chế phẩm (n₂ ml).

Tính hàm lượng (%) của C₁₈H₃₆O₂ theo công thức sau:

$$2,845 \left(n_1 - n_2 \right) \times \frac{100}{100 - h}$$

Trong đó:

h là hàm lượng nước của chế phẩm (%).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Lấy 50 ml dung dịch dikali hydrophosphat 3,5 % đã điều chỉnh pH đến 9,0 ± 0,05 với dung dịch acid phosphoric 2 M (TT) chuyển vào bình định mức dung tích 1000 ml. Thêm 400 ml nước, 165 ml tert-

butanol (TT) và 30 ml acetonitril (TT), thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch thử: Hòa tan 55,0 mg chế phẩm trong 5 ml methanol (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với dung dịch đệm phosphat pH 8,0 (TT). Ly tâm và dùng phần dung dịch trong.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40,0 mg erythromycin A chuẩn trong 5 ml methanol (TT) và pha loãng thành 10,0 ml bằng dung dịch đệm phosphat pH 8,0 (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg erythromycin B chuẩn và 10,0 mg erythromycin C chuẩn trong 25,0 ml methanol (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng dung dịch đệm phosphat pH 8,0 (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg N-demethylerythromycin A chuẩn (tạp chất B) trong dung dịch đối chiếu (2), thêm 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 25,0 ml với dung dịch đối chiếu (2).

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 3,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích của methanol (TT) và dung dịch đệm phosphat pH 8,0 (TT).

Dung dịch đối chiếu (5): Lấy 40 mg erythromycin A chuẩn cho vào một lọ thủy tinh để tạo thành một lớp có chiều dày không quá 1 mm. Đun nóng ở 130 °C trong 4 giờ. Để nguội, hòa tan trong hỗn hợp methanol - dung dịch đệm phosphat pH 8,0 (1 : 3) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là styren-divinylbenzen copolymer (8 μm) với kích thước giữa các hạt khoảng 100 nm.

Nhiệt độ cột 70 °C, sử dụng bề cách thủy nhúng ngập ít nhất 1/3 ống dẫn vào cột.

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 100 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3), (4) và (5). Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian rửa giải gấp 5 lần thời gian lưu của erythromycin A.

Thời gian lưu tương đối so với erythromycin A (khoảng 15 phút) là: tạp chất A khoảng 0,3; tạp chất B khoảng 0,45; erythromycin C khoảng 0,5; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất D khoảng 1,4; tạp chất F khoảng 1,5; erythromycin B khoảng 1,8 và tạp chất E khoảng 4,3.

Độ thích hợp hệ thống:

- Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), hệ số phân giải giữa pic của tạp chất B và erythromycin C ít nhất phải bằng 0,8. Hệ số phân giải giữa pic của tạp chất B và của erythromycin A ít nhất phải bằng 5,5. Điều chỉnh nồng độ của 2-methyl-2-propanol trong pha động hoặc điều chỉnh tốc độ dòng xuống 1,5 hay 1,0 ml/phút nếu cần thiết.

Hệ số hiệu chỉnh: Nhân diện tích pic của tạp chất E với 0,09; tạp chất F với 0,15 [dùng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) để xác định các tạp chất E, F].

Yêu cầu: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử.

- Diện tích pic của bất kỳ tạp chất nào cũng không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (3,0 %).

- Tổng diện tích pic của các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (6,0 %).

Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,02 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,06 %) và bỏ qua các pic tương ứng với pic của erythromycin B và erythromycin C.

Nước

Không được quá 4,0 % (Phụ lục 10.3).

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong dung dịch có chứa 10 % imidazol (TT) trong methanol khan (TT).

Tro sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao giống như phần thử Tạp chất liên quan. Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (2).

Độ thích hợp hệ thống: Tiêm riêng biệt 6 lần dung dịch đối chiếu (1), độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic không được lớn hơn 1,2 %.

Tính hàm lượng erythromycin A dựa vào sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), erythromycin B và erythromycin C dựa vào sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm macrolid.

Chế phẩm

Viên nén.

NANG ERYTHROMYCIN STEARAT

Capsulae Erythromycini stearatis

Là nang cứng có chứa erythromycin stearat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng nhẵn bóng, không méo mó, bột thuốc bên trong màu trắng hay ngà vàng, đồng nhất, gần như không có mùi.

Định tính

Lấy lượng bột thuốc trong 10 nang và nghiền thành bột mịn. Tiến hành thử các phép thử định tính erythromycin stearat như mô tả trong chuyên luận "Viên nén erythromycin stearat".

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

Cân chính xác khoảng 0,1 g bột thuốc, sấy trong chân không ở 60 °C trong 3 giờ.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu và tiến hành thử như mô tả trong mục Độ hòa tan của chuyên luận "Viên nén erythromycin stearat".

Định lượng

Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Tiến hành thử như mô tả trong mục Định lượng của chuyên luận "Viên nén erythromycin stearat".

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hoặc trong chai lọ nút kín.

Đề nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg; 500 mg.

VIÊN NÉN ERYTHROMYCIN STEARAT

Tabellae Erythromycini stearatis

Là viên nén hoặc viên bao chứa erythromycin stearat.

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

Hàm lượng erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng, không mùi; hoặc viên bao có màu đồng đều, nhẵn, không nứt cạnh, không dính tay, bên trong có màu trắng.

Định tính

Lấy 10 viên (loại bỏ vỏ bao, nếu có) và nghiền thành bột mịn.

A. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g erythromycin stearat, thêm 10 ml nước, lắc mạnh, gạn bỏ lớp nước, lấy cặn thêm 10 ml methanol (TT), lắc và lọc, bay hơi dịch lọc đến khô. Sấy cặn thu được ở áp suất không quá 0,7 kPa. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của erythromycin stearat hay với phổ của erythromycin stearat chuẩn.

B. Lấy một lượng bột viên có chứa khoảng 3 mg erythromycin, thêm 2 ml acetone (TT), lắc kỹ và thêm 2 ml acid hydrochloric (TT). Xuất hiện màu vàng cam, sau chuyển sang đỏ, rồi sang màu đỏ tím đậm. Thêm 2 ml cloroform (TT) và lắc kỹ, để yên cho tách lớp, lớp cloroform có màu tím.

C. Lấy một lượng bột viên có chứa khoảng 50 mg erythromycin, thêm 10 ml cloroform (TT), lắc kỹ và lọc. Bay hơi dịch lọc đến khô. Đun nóng nhẹ 0,1 g cặn thu được với 5 ml dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT) và 10 ml nước cho đến sôi. Có những hạt nhỏ dạng dầu nổi lên bề mặt. Để nguội, hớt lớp váng dầu cho vào ống nghiệm, thêm 3 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT), đun nóng, rồi làm nguội, dung dịch chuyển sang dạng gel. Thêm 10 ml nước nóng và lắc, dung dịch có bột. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm dung dịch calci clorid 10 % (TT), xuất hiện tủa dạng hạt không tan trong acid hydrochloric (TT).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch natri acetat 2,722 % được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng acid acetic băng (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Hút chính xác 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 40 ml acid acetic băng (TT), 10 ml dung dịch 4-dimethylamino benzaldehyd 0,5 % (kl/kl) trong acid acetic băng và thêm hỗn hợp acid acetic băng - acid hydrochloric đậm đặc (35 : 70) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Để yên 15 phút.

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị dung dịch của erythromycin stearat chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương với dung dịch mẫu thử. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch chuẩn thu được và tiến hành như với dung dịch thử.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch thử và dung dịch chuẩn thu được ở bước sóng 485 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là 5 ml môi trường hòa tan được tiến hành tương tự như dung dịch thử.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % lượng erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

Cân chính xác khoảng 0,1 g bột thuốc, sấy trong chân không ở 60 °C trong 3 giờ.

Định lượng

Cân 20 viên (loại bỏ vỏ bao, nếu có), tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân

chính xác một lượng bột viên tương ứng với 25 mg erythromycin vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm 50 ml *methanol* (TT), lắc kỹ và thêm *methanol* (TT) vừa đủ đến vạch.

Tiến hành định lượng theo chuyên luận "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).

Tính hàm lượng của erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, trong viên.

Cứ 1000 IU tìm thấy tương ứng với 1 mg $C_{37}H_{67}NO_{13}$.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hoặc trong chai lọ nút kín.

Đề nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

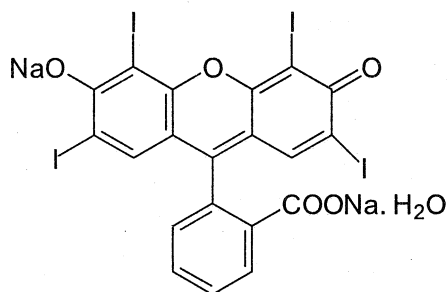
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg; 500 mg.

ERYTHROSIN

Erythrosinum



$C_{20}H_{14}Na_2O_5$
hoặc $C_{20}H_{14}K_2O_5$

P.t.l: 880

P.t.l: 912

Erythrosin là (tetraiodo-2, 4, 5, 7 oxo-3 oxydo-6 3H-xanthenyl-9)-2 benzoat dinatri hoặc dikali, phải chứa không dưới 85,0 % $C_{20}H_{14}Na_2O_5$ hoặc $C_{20}H_{14}K_2O_5$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu đỏ sẫm. Dễ tan trong nước, tan được trong ethanol, ít tan trong acetone, thực tế không tan trong methylen clorid. Dung dịch 0,1 % có màu đỏ cam và các vết bám trên thành ống nghiệm có màu tím. Ở pH 2,5 xuất hiện tủa có màu.

Định tính

Dung dịch S: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 50 ml bằng nước.

A. Lấy 1 ml dung dịch S pha loãng thành 100 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N*. Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch tạo thành trong khoảng từ 230 nm đến 550 nm cho 3 cực đại hấp thụ ở bước sóng (262 ± 5) nm; (309 ± 5) nm và (525 ± 3) nm.

B. Trong phần Tạt chất màu liên quan, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) có vị trí, màu sắc và kích thước tương tự vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

C. Khi đun nóng chế phẩm cho hơi có màu tím.

Độ trong của dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2)

Tạt chất màu liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: Amoniac - nước - ethanol - butanol (10 : 25 : 25 : 50).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 40 mg chế phẩm trong hỗn hợp nước - *methanol* (50 : 50) và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch thử (2): Lấy 2 ml dung dịch thử (1) và pha loãng bằng hỗn hợp nước - *methanol* (50 : 50) thành 10 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40 mg erythrosin chuẩn trong hỗn hợp nước - *methanol* (50 : 50) và pha loãng thành 50 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hút chính xác 5 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 100 ml bằng hỗn hợp nước - *methanol* (50 : 50).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên trên bản mỏng 5 μ l các dung dịch chuẩn và thử trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng sắc ký ra và để khô ngoài không khí. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày. Nếu trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) có vết phụ thì không vết phụ nào đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Chất tan trong ether

Không được quá 0,5 %.

Cân 2,0 g chế phẩm đã được sấy khô trước trong chân không ở 60 °C cho vào bình định mức dung tích 200 ml, thêm *ether khan* (TT) tới đủ thể tích. Lắc bằng máy lắc cơ học trong vòng 30 phút, lọc. Lấy 100 ml dịch lọc, bốc hơi trong chân không ở nhiệt độ không quá 20 °C. Làm khô cặn trong bình hút ẩm tới khối lượng không đổi. Khối lượng của cặn không được quá 5 mg.

Chất không tan trong nước

Không được quá 0,2 %.

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 200 ml nước bằng cách đun nóng khoảng 90 °C. Làm nguội rồi lọc qua một phễu lọc thủy tinh xộp số 16 đã được sấy đến khối lượng không đổi và cân bì. Rửa cặn với nước tới khi dịch rửa không màu, sấy cặn ở 100 °C đến 105 °C tới khối lượng không đổi. Khối lượng cặn thu được không quá 4 mg.

Amin thơm bậc nhất

Không được quá 40 phần triệu.

Hòa tan cần thu được trong phép thử "Chất tan trong ether" trong 10 ml *toluen* (TT). Lấy 2,5 ml dung dịch này thêm 6 ml *nước* và 4 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 N* (TT). Lắc mạnh, để cho phân lớp và gạn bỏ lớp dung môi hữu cơ, thêm vào lớp nước 0,4 ml *dung dịch natri nitrit 0,25 %*. Trộn đều và để yên trong một phút. Thêm 0,8 ml *dung dịch amoni sulfamat 0,5 %*, để yên trong một phút. Thêm 2 ml *dung dịch naphthylethylendiamin dihydroclorid 0,5 %* (TT). Để yên trong một giờ. Nếu dung dịch đem kiểm tra có màu, thì màu của nó không được đậm hơn màu của dung dịch chuẩn được chuẩn bị tương tự nhưng thay pha nước bằng 1 ml *dung dịch naphthylamin 0,001 %*, 5 ml *nước* và 4 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 N* (TT).

Crom hòa tan

Không được quá 50 phần triệu.

Xác định hàm lượng crom hòa tan bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử. (Phụ lục 4.4).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 25 ml *nước* bằng cách đun nóng khoảng 90 °C, để nguội, thêm *nước* cho đủ 25 ml và lọc qua phễu thủy tinh xốp số 16.

Dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch chuẩn 0,5 phần triệu, 1 phần triệu và 2 phần triệu từ dung dịch crom chuẩn 100 phần triệu.

Đo độ hấp thụ ở 357,9 nm, sử dụng đèn cathod rỗng crom làm nguồn phát xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị dung dịch mẫu đối chiếu.

Iodid

Không được quá 0,1 %.

Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 0,5 ml *acid nitric* (TT), lọc, rửa giấy lọc bằng *nước* để thu được 10 ml dịch lọc. Thêm 1 ml *dung dịch kali cromat 0,5 %* và 5 ml *cyclohexan* (TT), lắc và để yên. Chuẩn bị song song trong cùng điều kiện dung dịch chuẩn có 1 ml *dung dịch kali iodid 0,0131 %*. Màu sắc của lớp dung môi hữu cơ ở dung dịch thử không được đậm hơn màu của lớp dung môi hữu cơ ở dung dịch chuẩn.

Định lượng

Hòa tan 75,0 mg chế phẩm đã được làm khô trong chân không ở 60 °C đến khối lượng không đổi trong *dung dịch amoni acetat 0,1542 %* mới pha và pha loãng với dung môi này thành 100,0 ml. Lấy 2,0 ml dung dịch tạo thành pha loãng thành 200,0 ml với *dung dịch amoni acetat 0,1542 %*. Song song tiến hành một dung dịch chuẩn với 75,0 mg erythrosin

chuẩn đã được sấy khô trong chân không ở 60 °C đến khối lượng không đổi.

Đo phổ hấp thụ khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn và thử, dùng *dung dịch amoni acetat 0,1542 %* làm màu trắng, dung dịch thử cho một cực đại hấp thụ ở bước sóng khoảng 525 nm và bước sóng cực đại này sai lệch không quá 5 nm so với bước sóng cực đại hấp thụ của dung dịch chuẩn trong cùng điều kiện.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của hai dung dịch chuẩn và thử ở bước sóng cực đại hấp thụ, dùng *dung dịch amoni acetat 0,1542 %* làm mẫu trắng.

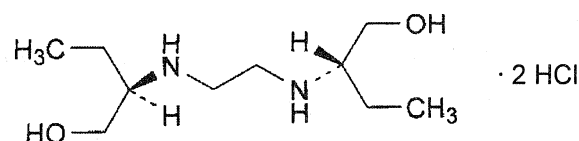
Từ độ hấp thụ đo được và nồng độ của các dung dịch chuẩn tính ra hàm lượng $C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$ hoặc $C_{20}H_{24}I_4K_2O_5$.

Bảo quản

Trong bình kín.

ETHAMBUTOL HYDROCLORID

Ethambutoli hydrochloridum



$C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$

P.t.l: 277,2

Ethambutol hydroclorid là 2,2'-(ethylenediimino)bis [(2S)-butan-1-ol]dihydroclorid, phải chứa từ 97,0 % đến 101,0 % $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Nhiệt độ nóng chảy khoảng 202 °C.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ethambutol hydroclorid chuẩn.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng ở phần thử 2-aminobutanol, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính của dung dịch đối chiếu (2) về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 0,2 ml *dung dịch đồng (II) sulfat 12,5 %* (TT). Thêm 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT), dung dịch có màu xanh da trời.

D. Chế phẩm cho phản ứng định tính (A) của ion clorid (phụ lục 8.1).

pH

Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 10 ml nước không có carbon dioxyd (TT), pH của dung dịch thu được phải từ 3,7 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).

2-Aminobutanol

Không được quá 1,0 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac - nước - methanol (10 : 15 : 75).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong vừa đủ 10 ml methanol (TT).

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg 2-amino-butanol (TT) trong 10 ml methanol (TT). Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50 mg ethambutol hydroclorid chuẩn trong 10 ml methanol (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 phút. Để nguội, phun lên bản mỏng dung dịch ninhydrin (TT), sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 phút. Trên sắc ký đồ dung dịch thử (1), vết tương ứng với 2-aminobutanol không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (1).

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8)

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

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 20 ml acid acetic khan (TT), thêm 5 ml dung dịch thủy ngân (II) acetat (TT) và chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD) với chỉ thị là dung dịch tím tinh thể (TT) (Phụ lục 10.6).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD) tương đương với 13,86 mg C₁₀H₂₄N₂O₂.2HCl.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Thuốc chống lao.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN ETHAMIBUTOL**Tabellae Ethambutoli**

Là viên nén chứa ethambutol hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu dưới đây:

Hàm lượng của ethambutol hydroclorid,

C₁₀H₂₄N₂O₂.2HCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Chiết một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg ethambutol hydroclorid, với 5 ml methanol (TT), lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của ethambutol hydroclorid.

B. Chiết một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g ethambutol hydroclorid với 10 ml nước, lọc và thêm vào dịch lọc 2 ml dung dịch đồng sulfat 1 %, sau đó thêm tiếp 1 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), xuất hiện màu xanh dương.

2-Aminobutanol

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac 13,5 M - nước - methanol (10 : 15 : 75).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên chứa 0,50 g ethambutol hydroclorid trong 5 phút với methanol (TT) vừa đủ 10 ml. Để lắng và dùng dung dịch trong phía trên.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 2-aminobutan-1-ol 0,050 % trong methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, sấy ở 110 °C trong 10 phút, để nguội, phun lên bản mỏng dung dịch ninhydrin (TT), sau đó sấy ở 110 °C trong 5 phút. Bất kỳ vết nào tương ứng với 2-aminobutanol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1 %).

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,2 g ethambutol hydroclorid, thêm 20 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), siêu âm 5 phút và chiết 3 lần liên tiếp, mỗi lần 25 ml hỗn hợp cloroform - propan-2-ol (3 : 1). Lọc lần lượt mỗi dịch chiết qua cùng một phễu lọc có natri sulfat khan (TT) đặt trên bông đã được thấm ướt trước bằng hỗn hợp cloroform - propan-2-ol (3 : 1) và sau đó rửa phễu lọc bằng 10 ml hỗn hợp trên.

Thêm 100 ml *acid acetic khan* (TT) vào dịch chiết gộp và dịch rửa rồi chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (phương pháp 1) (Phụ lục 10.6), dùng *dung dịch 1-naphthobenzein* (TT) làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 13,86 mg $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Thuốc chống lao.

Hàm lượng thường dùng

100 mg, 250 mg, 400 mg.

VIÊN NÉN ETHAMBUTOL HYDROCLORID VÀ ISONIAZID

Tabellae Ethambutoli hydrochloridi et Isoniazidi

Là viên nén bao phim chứa ethambutol hydroclorid và isoniazid.

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

Hàm lượng ethambutol hydroclorid, $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao phải nhẵn, không nứt cạnh, không dính tay, đồng đều về màu sắc. Bên trong của viên bao có màu trắng.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Aceton - acid acetic băng (100 : 1).

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 60 mg isoniazid với 20 ml *methanol* (TT) và lọc. Pha loãng dịch lọc với đồng thể tích *aceton* (TT) và trộn đều.

Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị dung dịch của isoniazid chuẩn có nồng độ 3 mg/ml trong *methanol* (TT). Pha loãng dung dịch trên với đồng thể tích *aceton* (TT) và trộn đều.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

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

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac 13,5 M - nước - methanol (10 : 15 : 75).

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 50 mg ethambutol hydroclorid với 10 ml *methanol* (TT) và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch của ethambutol hydroclorid chuẩn 0,5 % trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí. Phun lên bản mỏng *dung dịch ninhydrin* (TT) và sấy ở 110 °C trong 10 phút. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cách khuấy.

Môi trường: 900 ml dung dịch đệm phosphat pH 6,8 được chuẩn bị bằng cách hòa tan 8,4 g *dinatri hydrophosphat khan* (TT) trong 6 lít nước, điều chỉnh đến pH 6,8 bằng *acid phosphoric* (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Định lượng ethambutol hydroclorid hòa tan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký và cách tiến hành như phần định lượng ethambutol hydroclorid.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc qua giấy lọc (bỏ dịch lọc đầu), pha loãng với pha động (nếu cần) để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với dung dịch chuẩn và lọc.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % lượng ethambutol hydroclorid, $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng isoniazid hòa tan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký và cách tiến hành như phần định lượng isoniazid.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc qua giấy lọc (bỏ dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc bằng pha động để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với dung dịch chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).

Cân chính xác khoảng 0,1 g bột thuốc vào bình sấy nắp đậy có mao quản và sấy trong chân không ở 60 °C trong 3 giờ.

Định lượng

Định lượng ethambutol hydroclorid

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Trộn 1,0 ml triethylamin (TT) và 1000 ml nước, điều chỉnh đến pH 7,0 bằng acid phosphoric (TT).

Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm (50 : 50). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

Dung môi pha mẫu: Hòa tan 1,4 g dinatri hydrophosphat khan (TT) trong 1000 ml nước, điều chỉnh đến pH 6,8 bằng acid phosphoric (TT).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng ethambutol hydroclorid chuẩn trong dung môi pha mẫu để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,3 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, loại bỏ vỏ bao nếu cần, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột chế phẩm, tương ứng với khoảng 30 mg ethambutol hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 90 ml dung môi pha mẫu và lắc siêu âm khoảng 10 phút. Pha loãng bằng dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch và trộn đều. Lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh nitrilsilan silica gel (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 200 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 100 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng pic ethambutol hydroclorid không được lớn hơn 3 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ethambutol hydroclorid trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %. Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng ethambutol hydroclorid, $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$ trong ethambutol hydroclorid chuẩn.

Định lượng isoniazid

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Hòa tan 1,4 g dinatri hydrophosphat khan (TT) trong 1000 ml nước và điều chỉnh tới pH 6,8 bằng acid phosphoric (TT).

Dung môi A: Acetonitril - dung dịch đệm (4 : 96).

Dung môi B: Acetonitril - dung dịch đệm (55 : 45).

Pha động: Hỗn hợp của dung môi A và dung môi B theo phần điều kiện sắc ký.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cân chính xác của isoniazid chuẩn trong hỗn hợp dung dịch đệm - methanol (96 : 4) để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,08 mg/ml. Lọc (chỉ sử dụng dung dịch này trong vòng 10 phút).

Dung dịch thử: Cân 20 viên, loại bỏ vỏ bao nếu cần, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên, tương ứng với khoảng 8 mg isoniazid vào bình định mức 100 ml, thêm 90 ml dung dịch đệm và lắc siêu âm 10 phút. Để dung dịch cân bằng về nhiệt độ phòng và pha loãng bằng dung dịch đệm vừa đủ đến vạch và trộn đều. Lọc (chỉ sử dụng dung dịch này trong vòng 2 giờ).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 238 nm.

Chương trình gradient dung môi:

Thời gian (min)	Dung môi A (%)	Dung môi B (%)	
0	100	0	Cân bằng cột
0 - 5	100	0	Đẳng dòng
5 - 6	100→0	0→100	Gradient
6 - 15	0	100	Đẳng dòng

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi số đĩa lý thuyết, tính trên pic isoniazid, không dưới 6 000 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic isoniazid trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_6H_7N_3O$ trong isoniazid chuẩn.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống lao.

Hàm lượng thường dùng

Ethambutol 400 mg và isoniazid 150 mg.

ETHANOL**Ethanolum****Alcol tuyệt đối, alcol khan**C₂H₅OH

P.t.l: 46,07

Ethanol phải chứa ít nhất 99,5 % (tt/tt) hoặc 99,2% (kl/kl) C₂H₅OH ở 20 °C, tính từ tỉ trọng tương đối bằng cách tra bảng độ cồn (Phụ lục 6.5).

Tính chất

Chất lỏng không màu, trong, động và dễ bay hơi, sôi ở 78 °C, có mùi thơm đặc trưng của rượu, dễ cháy, cháy với ngọn lửa màu xanh da trời, không có khói, hút ẩm. Hòa trộn với nước, cloroform và với ether.

Định tính; độ trong và màu sắc của dung dịch; giới hạn acid - kiềm; độ hấp thụ quang; tạp chất bay hơi; cặn còn lại sau khi bay hơi

Phải tuân theo các yêu cầu và phương pháp thử như đã qui định trong chuyên luận ethanol 96 %.

Tỷ trọng tương đối

Từ 0,790 đến 0,793 (Phụ lục 6.5).

Bảo quản

Tránh ẩm, ở nhiệt độ từ 8 °C đến 15 °C, dễ cháy.

CÁC ETHANOL LOÃNG**Dilutum ethanolum**

Các ethanol loãng được dụng có chứa 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 45 %, 25 % và 20 % (tt/tt) C₂H₅OH. Các ethanol loãng này được điều chế theo mô tả dưới đây, điều chỉnh thể tích cuối cùng được thực hiện ở nhiệt độ như nhau (20 °C) cũng giống như ở nhiệt độ được đo đối với ethanol 96 %.

Chú ý: Hỗn hợp ethanol và nước có kèm theo sự giảm thể tích và sự tăng nhiệt độ.

Định tính, độ trong của dung dịch, giới hạn acid - kiềm, chất bay hơi và cặn còn lại sau khi bay hơi

Phải tuân theo các yêu cầu và phương pháp thử như đã quy định trong chuyên luận ethanol 96 %.

Ethanol 90 %

Alcol 90 %.

Pha loãng 934 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng nước.

Hàm lượng ethanol từ 89,6 % đến 90,5 % (tt/tt).

Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 826,4 kg.m⁻³ đến 829,4 kg.m⁻³.

Ethanol 80 %

Alcol 80 %.

Pha loãng 831 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng nước.

Hàm lượng ethanol từ 79,5 % đến 80,3 % (tt/tt).

Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 857,4 kg.m⁻³ đến 859,6 kg.m⁻³.

Ethanol 70 %

Alcol 70 %.

Pha loãng 727 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng nước.

Hàm lượng ethanol từ 69,5 % đến 70,4 % (tt/tt).

Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 883,5 kg.m⁻³ đến 885,8 kg.m⁻³.

Ethanol 60 %

Alcol 60 %.

Pha loãng 623 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng nước.

Hàm lượng ethanol từ 59,7 % đến 60,2 % (tt/tt).

Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 907,6 kg.m⁻³ đến 908,7 kg.m⁻³.

Ethanol 50 %

Alcol 50 %.

Pha loãng 519 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng nước.

Hàm lượng ethanol từ 49,6 % đến 50,2 % (tt/tt).

Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 928,6 kg.m⁻³ đến 929,8 kg.m⁻³.

Ethanol 45 %

Alcol 45 %.

Pha loãng 468 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng nước.

Hàm lượng ethanol từ 44,7 % đến 45,3 % (tt/tt).

Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 938,0 kg.m⁻³ đến 939,0 kg.m⁻³.

Ethanol 25 %

Alcol 25 %.

Pha loãng 259 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng nước.

Hàm lượng ethanol từ 24,6 % đến 25,4 % (tt/tt).

Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 966,6 kg.m⁻³ đến 967,5 kg.m⁻³.

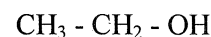
Ethanol 20 %

Alcol 20 %.

Pha loãng 207 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng nước.

Hàm lượng ethanol từ 19,5 % đến 20,5 % (tt/tt).

Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 972,0 kg.m⁻³ đến 973,1 kg.m⁻³.

ETHANOL 96 %**Ethanolum 96 %**C₂H₅OH

P.t.l: 46,07

Ethanol 96 % là hỗn hợp ethanol và nước, chứa từ 92,6 % (kl/kl) đến 95,2 % (kl/kl) hoặc từ 95,1 % (tt/tt) đến 96,9 % (tt/tt) C_2H_5OH ở 20 °C, tính từ tỉ trọng tương đối bằng cách tra bảng đo độ cồn (Phụ lục 6.5).

Tính chất

Chất lỏng không màu, trong suốt, dễ bay hơi, có mùi đặc trưng, dễ cháy, khi cháy không có khói và ngọn lửa có màu xanh. Hòa lẫn với nước, cloroform, ether và glycerin.

Định tính

A. Đun nóng 1 ml chế phẩm với 1 ml *acid acetic băng (TT)* và thêm vài giọt *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*, sẽ có mùi ethyl acetat.

B. Thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* vào 5 ml dung dịch chế phẩm 0,5 % (tt/tt) trong nước, sau đó thêm từ từ 2 ml dung dịch trong nước có chứa 2 % *iod (TT)* và 4 % *kali iodid (TT)*. Sẽ có mùi iodoform bay lên và có tủa màu vàng xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Chế phẩm phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2) khi so sánh với nước.

Pha loãng 1,0 ml chế phẩm thành 20 ml bằng nước, để yên 5 phút dung dịch thu được vẫn phải trong khi so sánh với nước (Phụ lục 9.2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 20 ml nước không có carbon dioxyl (TT) và 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* vào 20 ml chế phẩm. Dung dịch phải không màu. Thêm 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* dung dịch phải có màu hồng.

Tỷ trọng tương đối

Từ 0,805 đến 0,812 (Phụ lục 6.5).

Độ hấp thụ quang

Lấy nước làm mẫu trắng, ghi phổ hấp thụ tử ngoại của chế phẩm từ 235 nm đến 340 nm, sử dụng cốc đo có độ dài quang trình 5 cm. Chế phẩm phải có độ hấp thụ tại 240 nm lớn nhất là 0,40; độ hấp thụ trong khoảng 250 nm đến 260 nm lớn nhất là 0,30; độ hấp thụ trong khoảng 270 nm đến 340 nm lớn nhất là 0,10 và đường cong hấp thụ phải trơn (không bị nhiễu) (Phụ lục 4.1).

Tạp chất bay hơi

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử (1): Chế phẩm cần thử.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 150 µl 4-methylpentan-2-ol (TT) vào 500,0 ml chế phẩm.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 100 µl methanol khan (TT) thành 50,0 ml bằng chế phẩm. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng chế phẩm.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 50 µl methanol khan (TT) và 50 µl acetaldehyd (TT) thành 50 ml bằng

chế phẩm. Pha loãng 100 µl dung dịch này thành 10,0 ml bằng chế phẩm.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 150 µl acetal (1,1-diethoxyethan) thành 50,0 ml bằng chế phẩm. Pha loãng 100 µl dung dịch này thành 10,0 ml bằng chế phẩm.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 100 µl benzen (TT) thành 100,0 ml bằng chế phẩm. Pha loãng 100 µl dung dịch này thành 50,0 ml bằng chế phẩm.

Điều kiện sắc ký:

Cột sắc ký: Silica nung chảy, (30 m × 0,32 mm) được nhồi poly[(cyanopropyl)(phenyl)] [dimethyl]siloxan (độ dày lớp bao 1,8 µm).

Khí mang: heli dùng cho sắc ký khí (TT) với tốc độ 35 cm/s.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 20.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 12	40
	12 - 32	40 → 240
	32 - 42	240
Buồng tiêm mẫu		200
Detector		280

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic thứ nhất (acetaldehyd) và pic thứ hai (methanol) ít nhất là 1,5

Giới hạn:

Diện tích của pic methanol trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1): không được quá 0,5 lần diện tích pic tương ứng trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (200 phần triệu, tt/tt).

Acetaldehyd + acetal: Không được quá 10 phần triệu (tt/tt), tính theo acetaldehyd.

Tính tổng hàm lượng phần triệu (tt/tt) của acetaldehyd và acetal theo công thức sau:

$$\frac{10 \times A_E}{A_T - A_E} + \frac{30 \times C_E}{C_T - C_E}$$

Trong đó:

A_E là diện tích pic acetaldehyd trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1);

A_T là diện tích pic acetaldehyd trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2);

C_E là diện tích pic acetal trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1);

C_T là diện tích pic acetal trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

- Benzen: Không được quá 2 phần triệu (tt/tt).

Tính hàm lượng phần triệu (tt/tt) benzen theo công thức sau:

$$\frac{2B_E}{B_T - B_E}$$

Trong đó:

B_E là diện tích pic benzen trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1);

B_T là diện tích pic benzen trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4).

Nếu cần, có thể xác định benzen bằng một hệ thống sắc ký thích hợp khác (pha tĩnh với độ phân cực khác).

- Tổng diện tích pic của các tạp chất khác trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2): không được lớn hơn diện tích pic của 4-methylpentan-2-ol trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2) (300 phần triệu). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,03 lần diện tích pic của 4-methylpentan-2-ol trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2) (9 phần triệu).

Cẩn còn lại sau khi bay hơi

Không được quá 25 phần triệu (kl/tt).

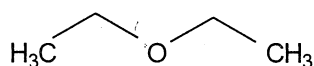
Lấy 100 ml chế phẩm làm bay hơi trên cách thủy đến khô, sấy cẩn ở 100 °C đến 105 °C trong 1 giờ. Cẩn còn lại không được quá 2,5 mg.

Bảo quản

Tránh ẩm, ở nhiệt độ từ 8 °C đến 15 °C, dễ cháy.

ETHER MÊ

Aether anaestheticus



$C_4H_{10}O$

P.t.l: 74,1

Ether mê là diethyl ether có chứa một lượng thích hợp chất chống oxy hóa không bay hơi phù hợp.

Tính chất

Chất lỏng trong suốt, không màu, rất linh động, có mùi đặc biệt. Dễ cháy, dễ bay hơi. Hơi ether hòa lẫn ở một tỷ lệ nhất định với không khí, oxy hoặc nitrogen oxyd cho hỗn hợp nổ. Tan trong 15 phần nước, tan theo bất kỳ tỷ lệ nào trong ethanol, benzen, cloroform, ether dầu hỏa, các dầu béo và các tinh dầu.

Định tính

- Chế phẩm phải đạt yêu cầu phép thử về tỷ trọng.
- Chế phẩm phải đạt yêu cầu phép thử về khoảng chưng cất.

Tỷ trọng

0,714 đến 0,716 (Phụ lục 6.5).

Khoảng chưng cất

Không thực hiện nếu chế phẩm không đáp ứng phép thử peroxyd. Chế phẩm phải được cất hoàn toàn trong khoảng 34 °C đến 35 °C (Phụ lục 6.8).

Ether mê phải tuân theo các yêu cầu và phương pháp thử tinh khiết như "Ether thường", ngoài ra còn phải đáp ứng các yêu cầu sau:

Peroxyd

Cho 8,0 ml dung dịch kali iodid - hồ tinh bột (TT) vào ống nghiệm có nút mài có dung tích khoảng 12 ml, đường kính 1,5 cm. Làm đầy bằng chế phẩm và lắc mạnh, để yên ở chỗ tối 30 phút, không được xuất hiện màu.

Aceton và aldehyd

Lắc 10,0 ml chế phẩm với 1 ml dung dịch kali tetraiodomercurat kiểm (TT) trong ống nghiệm có nút mài trong 10 giây và để yên 5 phút trong bóng tối. Chỉ được xuất hiện đục nhẹ ở lớp chất lỏng phía dưới.

Nếu không đạt được yêu cầu trên, lấy 40,0 ml chế phẩm đem cất đến còn lại khoảng 5 ml, dịch cất được hứng vào bình làm lạnh trong nước đá. Thử lại với 10,0 ml dịch cất (quá trình cất lại chỉ áp dụng khi chế phẩm đạt yêu cầu về peroxyd).

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng và để ở chỗ mát (nhiệt độ từ 8 °C đến 15 °C), rất dễ cháy.

Ghi chú: Không được dùng gây mê nếu lọ đã mở quá 24 giờ.

Sau thời hạn 6 tháng bảo quản phải kiểm tra chất lượng của chế phẩm.

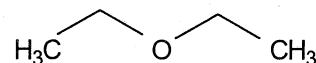
Nhãn cần phải ghi loại, nồng độ bất kỳ chất chống oxy hóa không bay hơi được thêm vào; đường thích hợp cho việc sử dụng để gây mê.

Loại thuốc

Gây mê.

ETHER THƯỜNG

Aether medicinalis



$C_4H_{10}O$

P.t.l: 74,1

Ether thường là diethyl ether chứa từ 96,0 % đến 98,0 % $C_4H_{10}O$, có chứa một ít ethanol và nước.

Tính chất

Chất lỏng trong suốt, không màu, rất linh động, có mùi đặc biệt. Dễ cháy, dễ bay hơi. Hơi ether hòa lẫn ở một tỷ lệ nhất định với không khí, oxy hoặc nitrogen oxyd cho hỗn hợp nổ. Tan trong 15 phần nước, tan theo bất kỳ tỷ lệ nào trong ethanol, benzen, cloroform, ether dầu hỏa, các dầu béo và các tinh dầu.

Định tính

- A. Chế phẩm phải đạt yêu cầu phép thử về tỷ trọng.
 B. Chế phẩm phải đạt yêu cầu phép thử về khoảng chưng cất.

Tỷ trọng

0,714 đến 0,718 (Phụ lục 6.5).

Khoảng chưng cất

Không thực hiện nếu chế phẩm không đáp ứng phép thử peroxyd. Chế phẩm phải được cất hoàn toàn trong khoảng 34 °C đến 36 °C (Phụ lục 6.8).

Giới hạn acid

Lấy 20,0 ml *ethanol* 96 % (TT), thêm 0,25 ml *dung dịch xanh bromothymol* (TT) và nhỏ *dung dịch natri hydroxyd* 0,02 M (CĐ) cho tới khi xuất hiện màu xanh bền vững trong 30 giây. Thêm 25,0 ml chế phẩm, trộn đều và nhỏ thêm *dung dịch natri hydroxyd* 0,02 M (CĐ) cho tới khi màu xanh xuất hiện trở lại bền vững trong 30 giây. Thể tích *dung dịch natri hydroxyd* 0,02 M (CĐ) đã dùng không được lớn hơn 0,4 ml.

Peroxyd

Cho 8,0 ml *dung dịch kali iodid* 10 % (TT) vào ống nghiệm có nút mài, dung tích khoảng 12 ml, đường kính 1,5 cm. Làm đầy bằng chế phẩm và lắc mạnh, để yên ở chỗ tối 30 phút. Bất kỳ màu vàng nào xuất hiện không được đậm hơn màu của dung dịch gồm 0,5 ml *dung dịch iod* 0,0005 M (CĐ) được pha loãng với 8,0 ml *dung dịch kali iodid* 10 % (TT).

Aldehyd

Lắc 10,0 ml chế phẩm với 1 ml *dung dịch kali tetraiodomercurat kiềm* (TT) trong ống nghiệm có nút mài trong 10 giây và để yên 5 phút trong bóng tối. Lớp chất lỏng phía dưới đục và có màu vàng hoặc nâu đỏ, không được có màu xám hoặc đen.

Mùi lạ

Nhỏ dần dần 10,0 ml chế phẩm lên mảnh giấy lọc sạch, không mùi, có diện tích khoảng 25 cm², để bay hơi ngoài không khí. Sau khi ether đã bay hơi, giấy lọc không có mùi lạ.

Nước

Không được quá 0,2 % (kl/tt) (Phụ lục 10.3).

Dùng 20 ml chế phẩm.

Cẩn sau khi bay hơi

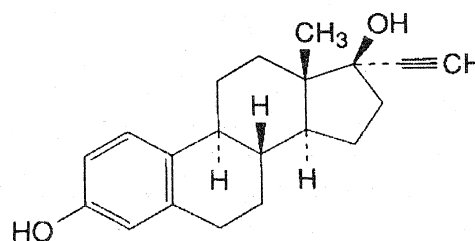
Không tiến hành phép thử này nếu như chế phẩm không đạt yêu cầu về peroxyd. Lấy chính xác 50 ml chế phẩm cho vào cốc thủy tinh đã cân bì. Làm bay hơi trên cách thủy. Cẩn còn lại sau khi đã sấy ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi, không được quá 1,0 mg.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng, để ở nhiệt độ không quá 15 °C và rất dễ cháy.

Loại thuốc

Làm dung môi.

ETHINYLESTRADIOL***Ethinylestradiolum***

$C_{20}H_{24}O_2$

P.t.l:296,4

Ethinylestradiol là 19-Nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-20-yn-3,17-diol phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{20}H_{24}O_2$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc màu trắng hơi vàng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong *ethanol* 96 %, tan trong dung dịch kiềm loãng.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ethinylestradiol chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại của chúng khác nhau thì hòa tan chế phẩm và chất đối chiếu trong methanol, bốc hơi đến khô và xác định lại phổ hồng ngoại của các cần thu được.

B. Sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethanol 96 % - toluen (10 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 25 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg ethinylestradiol chuẩn trong 25 ml hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 25 ml bằng cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để bản mỏng bay hơi tự nhiên đến hết dung môi, sau đó sấy ở 110 °C trong 10 phút. Phun lên bản mỏng nóng *dung dịch acid sulfuric* 20 % trong *ethanol* 96 %, tiếp tục sấy ở 110 °C trong 10 phút. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 365 nm.

Trên sắc ký đồ thu được, dung dịch thử phải cho vết có vị trí, màu sắc, huỳnh quang và kích thước tương tự như vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Góc quay cực riêng

Từ -27° đến -30°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong pyridin và pha loãng thành 25,0 ml bằng pyridin và đo.

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril* - nước (45 : 55).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 10,0 ml dung dịch thử với pha động thành 50,0 ml. Hút chính xác 1,0 ml dung dịch này và pha loãng với pha động thành 20,0 ml.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 10 mg estradiol trong pha động, thêm 10,0 ml dung dịch thử và pha loãng với pha động thành 50,0 ml. Hút chính xác 1,0 ml dung dịch này và pha loãng với pha động thành 10,0 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 μm).

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm

Thể tích tiêm: 20 μl

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải: phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tạp chất D (estradiol) và pic ethinylestradiol ít nhất là 3,5. Tiêm dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Tiến hành chạy sắc ký dung dịch thử với thời gian chạy gấp 2,5 lần thời gian lưu của pic ethinylestradiol. Khi so sánh với thời gian lưu của ethinylestradiol, thời gian lưu tương đối của tạp chất D khoảng 0,76 và thời gian lưu tương đối của tạp chất B (19-nor-17α-pregna-1,3,5(10),9(11)-tetraen-20-yn-3,17-diol) khoảng 0,94.

Trong sắc ký đồ của dung dịch thử: pic tương ứng với pic tạp chất B có diện tích không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1 %); bất cứ một pic tạp nào khác có diện tích không được lớn hơn 0,25 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,25 %).

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

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

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 40 ml *tetrahydrofuran* (TT), thêm 5 ml *dung dịch bạc nitrat* 10 %. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (CĐ), xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

Song song tiến hành mẫu trắng.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (CĐ) tương đương với 29,64 mg C₂₀H₂₄O₂.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

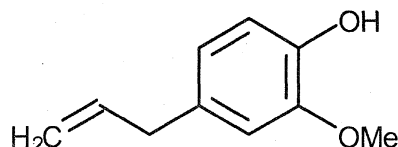
Hormon sinh dục nữ.

Chế phẩm

Viên nén. Viên hỗn hợp ethinylestradiol và levonorgestrel.

EUGENOL

Eugenolum



C₁₀H₁₂O₂

P.t.l: 164,2

Eugenol là 2-methoxy-4-allylphenol.

Tính chất

Chất lỏng trong, không màu hay vàng nhạt, sẫm màu lại khi tiếp xúc với không khí, có mùi đinh hương.

Thực tế không tan trong nước, không tan trong glycerin, dễ tan trong ethanol 70 % (tt/tt), trộn lẫn được với acid acetic, ethanol 96 %, ether, dầu béo và methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của eugenol chuẩn.

B. Phải đáp ứng yêu cầu của phép thử chỉ số khúc xạ.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - toluen (1 : 9).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 μl chế phẩm trong ethanol 96 % (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 μl eugenol chuẩn trong ethanol 96 % (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng khí lạnh và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Dung dịch thử phải cho vết chính có vị trí và kích thước tương ứng với vết chính của dung dịch đối chiếu. Phun bản mỏng bằng *dung dịch anisaldehyd* (TT), sấy bản mỏng ở 100 °C - 105 °C

trong 10 phút. Dung dịch thử phải cho vết chính có vị trí, màu sắc và kích thước tương ứng với vết chính của dung dịch đối chiếu.

D. Hòa tan 0,05 ml chế phẩm trong 2 ml *ethanol* 96 % (TT) và thêm 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid* 10,5 % (TT), màu xanh lục đậm xuất hiện và chuyển sang xanh vàng trong vòng 10 phút.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Trộn 1 thể tích chế phẩm với 2 thể tích *ethanol* 70 % (tt/tt). Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu mẫu V₄ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tỷ trọng

1,066 đến 1,070 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ

1,540 đến 1,542 (Phụ lục 6.1).

Tạp chất liên quan

Không được quá 2,0 %.

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *ethanol* 96 % (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50 mg *vanilin* (TT) trong 1 ml dung dịch thử và pha loãng thành 5 ml bằng *ethanol* 96 % (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột mao quản bằng silica nung chảy (chiều dài 30 m, đường kính trong 0,25 mm) được tráng một lớp phim *polymethylphenylsiloxan* (TT) (chiều dày lớp phim 0,25 µm).

Khí mang là khí heli dùng cho sắc ký khí, lưu lượng 1 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 40.

Chương trình nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)	Tốc độ (°C/phút)	Ghi chú
Cột	0 - 2	80		Đẳng nhiệt
	2 - 27	80 → 280	8	Gradient tuyến tính
	27 - 47	280		Đẳng nhiệt
Buồng tiêm		250		
Detector		280		

Tiêm 1 µl dung dịch thử và 1 µl mỗi dung dịch đối chiếu (1) và (2). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), thời gian lưu tương đối của pic tương ứng với *vanilin* phải đạt ít nhất 1,1 so với pic của *eugenol*. Tính tỷ lệ % tạp chất liên quan từ diện tích các pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử bằng phương pháp phần trăm diện tích (Quy trình

chuẩn hóa, Phụ lục 5); bỏ qua pic dung môi và các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Lượng tạp chất liên quan có thời gian lưu tương đối lớn hơn 2,0 so với pic chính không được lớn hơn 1,0 %; không tạp chất liên quan nào được lớn hơn 0,5 %; tổng lượng tạp chất liên quan không được lớn hơn 3,0 %.

Hydrocarbon

Hòa tan 1 ml chế phẩm trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd* 2 M (TT) và thêm 30 ml *nước* trong một ống nghiệm có nút. Quan sát ngay, dung dịch phải có màu vàng và trong (Phụ lục 9.3 và 9.2). Dung dịch trở nên đục khi tiếp xúc với không khí.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Bảo quản

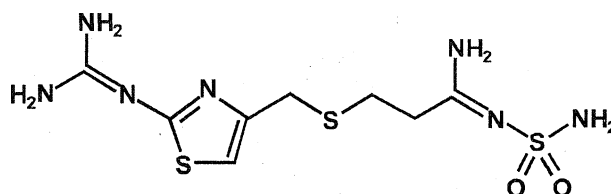
Trong đồ đựng kín và đậy, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Dùng làm chất gây tê tại chỗ trong nha khoa.

FAMOTIDIN

Famotidinum



C₈H₁₅N₇O₂S₃

P.t.l: 337,5

Famotidin là 3-[[[2-[(diaminomethylen)amino]thiazol-4-yl]methyl]sulphonyl]-N'-sulphamoylpropanimidamid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % C₈H₁₅N₇O₂S₃, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hay tinh thể trắng hoặc trắng ngà. Rất khó tan trong nước và *ethanol*, dễ tan trong dimethylformamid và acid acetic băng, khó tan trong methanol, thực tế không tan trong ether và ethyl acetat, tan trong các dung dịch acid vô cơ loãng.

Chế phẩm có thể tồn tại ở hai dạng với nhiệt độ nóng chảy khác nhau ở khoảng 163 °C và 169 °C, kèm theo sự phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của famotidin chuẩn. Xác

định phổ hồng ngoại của mẫu chuẩn và thử bằng cách chuẩn bị các mẫu dưới dạng đĩa nén. Nếu hai phổ không phù hợp với nhau thì tiến hành tiếp như sau: Lắc riêng rẽ 0,10 g chế phẩm và chất chuẩn trong 5 ml nước. Đun tới sôi rồi để nguội, cọ thành ống nghiệm bằng đĩa thủy tinh để tạo sự kết tinh. Lọc, rửa các tinh thể thu được bằng 2 ml nước đá và sấy ở 80 °C dưới áp suất không quá 0,67 kPa trong 1 giờ. Ghi lại phổ hồng ngoại của các căn thu được.

B. Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong dung dịch đệm phosphat pH 2,5 (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng dung dịch đệm phosphat pH 2,5 (TT). Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm phải cho một cực đại hấp thụ ở 265 nm. A (1 %, 1 cm) ở cực đại này từ 297 đến 315, tính theo chế phẩm đã làm khô.

C. Kiểm tra sắc ký đồ ở mục phép thử “Tập chất liên quan”: Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải giống về vị trí và kích thước với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4).

D. Hòa tan bằng cách lắc 5 mg chế phẩm và khoảng 3 mg *p*-phenylendiamin dihydroclorid (TT) trong 5 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT). Thêm khoảng 0,1 g bột kẽm (TT), lắc đều và để yên 2 phút. Thêm 5 ml dung dịch sắt (III) amoni sulfat 20 % và lắc đều. Màu xanh hoặc xanh tím sẽ xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT), đun nóng đến 40 °C (nếu cần) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tập chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄ (5 µm đến 7 µm).

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - toluen - methanol - ethyl acetat (2 : 20 : 25 : 40).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong acid acetic băng (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng acid acetic băng (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 100 ml bằng acid acetic băng (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2 ml dung dịch thử (2) thành 100 ml bằng acid acetic băng (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 3 ml dung dịch thử (2) thành 100 ml bằng acid acetic băng (TT).

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 20 mg famotidin chuẩn trong acid acetic băng (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên bằng cách chấm từng 1 µl một và làm khô các vết sau mỗi lần chấm dưới một luồng khí nitrogen. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 8 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí cho đến khi hết mùi dung môi rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1): bất kỳ vết nào ngoài vết chính và vết tại điểm xuất phát đều không được đậm hơn vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %); tổng lượng tạp, căn cứ vào việc so sánh độ đậm của các vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2) (tương ứng với 0,1 % và 0,2 %) không được lớn hơn 0,5 %.

Kim loại nặng

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

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4.

Dùng 2 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 80 °C; áp suất không quá 0,67 kPa; 5 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,120 g chế phẩm trong 60 ml acid acetic khan (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 16,87 mg C₈H₁₅N₇O₂S₃.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng histamin H₂.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN FAMOTIDIN

Tabellae Famotidini

Là viên nén chứa famotidin. Viên có thể được bao đường hoặc bao phim.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng famotidin, C₈H₁₅N₇O₂S₃, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng hoặc viên bao có màu. Viên bao phải nhẵn bóng, không nứt cạnh, không dính tay, đồng đều về màu sắc.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - methanol - toluen - amoniac* (40 : 25 : 20 : 2)

Dung dịch thử: Lắc siêu âm một lượng bột viên tương ứng với khoảng 40 mg famotidin với 4 ml *acid acetic băng* (TT), pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi, ly tâm hỗn hợp thu được. Dùng dung dịch trong phía trên.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch famotidin chuẩn 0,4 % trong *acid acetic băng* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Để khô vết chấm ngoài không khí, triển khai sắc ký (trong bình đã được bão hòa dung môi khoảng 1 giờ trước khi triển khai) đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải tương đương về hình dạng và giá trị R_f .

B. Trong phân định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng thời gian lưu với pic famotidin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 4,5 [chuẩn bị bằng cách hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong nước, điều chỉnh pH của dung dịch bằng *acid phosphoric* (TT) hoặc *dung dịch kali hydroxyd 1 M* và thêm nước vừa đủ 1000 ml].

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min (60 phút với viên bao đường).

Cách tiến hành: Lấy một phần môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu), pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 265 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tiến hành đo song song với dung dịch famotidin chuẩn pha trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương. Tính lượng famotidin đã hòa tan dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của $C_8H_{15}N_7O_2S_3$ trong famotidin chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng famotidin, $C_8H_{15}N_7O_2S_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút (hoặc 60 phút đối với viên bao đường).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong 800 ml nước và điều chỉnh tới pH 7,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT). Hòa loãng với nước thành 1000 ml, trộn đều.

Pha động: Nước - methanol - dung dịch đệm (31 : 6 : 3), điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *acid phosphoric* (TT), trộn đều, lọc.

Dung dịch thử: Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 80 mg famotidin vào bình định mức 200 ml, thêm 20 ml dung dịch đệm và 120 ml nước. Lắc siêu âm 5 phút và tiếp tục lắc bằng máy lắc trong 1 giờ. Pha loãng với nước tới định mức, trộn đều và lọc (bỏ dịch lọc đầu). Pha loãng một phần dịch lọc với dung dịch đệm để thu được một dung dịch có chứa khoảng 80 µg famotidin trong 1 ml.

Dung dịch chuẩn (dùng trong ngày): Hòa tan một lượng thích hợp famotidin chuẩn trong dung dịch đệm để thu được một dung dịch có chứa khoảng 80 µg famotidin chuẩn trong 1 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột: Cột thép không gỉ (4,6 mm × 25 cm), nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

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

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hiệu lực của cột được xác định từ pic đáp ứng của dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột không được dưới 2500. Hệ số đối xứng thu được từ pic chính famotidin không lớn hơn 3 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic famotidin thu được từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %. Khi cột không đạt hiệu lực, có thể sử dụng phương pháp rửa cột như sau: Rửa cột bằng *dung dịch acid phosphoric 0,05 M* với tốc độ dòng 1,3 ml trong 15 phút, tiếp tục rửa lần lượt trong điều kiện tốc độ dòng và thời gian như trên với nước, *acetonitril* (TT), *methanol* (TT) và sau cùng là cân bằng cột với pha động.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng famotidin, $C_8H_{15}N_7O_2S_3$, trong viên dựa theo diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử, của dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_{15}N_7O_2S_3$ trong famotidin chuẩn.

Bảo quản

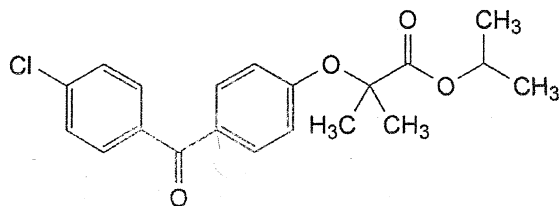
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng histamin H_2 .

Hàm lượng thường dùng

40 mg.

FENOFIBRAT*Fenofibratum* $C_{20}H_{21}ClO_4$

P.t.l: 360,8

Fenofibrat là 1-methylethyl 2-[4-(4-clorobenzoyl)phenoxy]-2-methylpropanoat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{20}H_{21}ClO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng.

Thực tế không tan trong nước, rất dễ tan trong methylen clorid, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của fenofibrat chuẩn.

B. Điểm chảy (Phụ lục 6.7): 79 °C đến 82 °C.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 25 ml nước cất và làm nóng ở 50 °C trong 10 phút. Để nguội và pha loãng thành 50,0 ml với nước cất. Lọc. Dịch lọc là dung dịch S.

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *aceton* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu của màu mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol* 96 % (TT) đã được trung hòa trước với chỉ thị là 0,2 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT). Dung dịch sẽ chuyển sang màu hồng khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (CĐ).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Điều kiện sắc ký và các dung dịch như mô tả trong phần định lượng, nhưng thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của các pic trên sắc ký đồ đạt ít nhất 20 % của thang đo. Với điều kiện sắc ký như mô tả, thời gian lưu tương đối của tạp chất A khoảng 0,34; tạp chất B khoảng 0,36; tạp chất C khoảng 0,50, tạp chất D khoảng 0,65, tạp chất E khoảng 0,80, tạp chất F khoảng 0,85, và tạp chất G khoảng 1,35. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic của tạp chất A và tạp chất B ít nhất là 1,5.

Tiêm dung dịch đối chiếu (2) và dung dịch thử. Tiến hành sắc ký đối với dung dịch thử trong thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của fenofibrat. Trên sắc ký đồ thu được với dung dịch thử: diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với tạp A, tạp chất B hoặc tạp chất G không được lớn hơn diện tích pic tương ứng của các tạp chất A, B và G trong dung dịch đối chiếu (2) (0,1 % đối với các tạp chất A, và B; 0,2 % đối với tạp chất G); diện tích của bất kỳ pic nào trừ pic chính và các pic tương ứng với tạp chất A, tạp chất B hoặc tạp chất G không được lớn hơn diện tích pic tương ứng với fenofibrat trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %); tổng diện tích của tất cả các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn 5 lần diện tích pic tương ứng với fenofibrat trong sắc ký đồ đạt được của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần so với diện tích pic của fenofibrat trong sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu (2).

Ghi chú:

Tạp chất A: (4-clorophenyl)(4 hydroxyphenyl)methanon.

Tạp chất B: Acid 2-[4-(4-clorobenzoyl)phenoxy]-2-methylpropanoic (acid fenofibric).

Tạp chất C: (3*RS*)-3-[4-(4-clorobenzoyl)phenoxy]-butan-2-on.

Tạp chất D: Methyl 2-[4-(4-clorobenzoyl)phenoxy]-2-methylpropanoat.

Tạp chất E: Ethyl 2-[4-(4-clorobenzoyl)phenoxy]-2-methylpropanoat.

Tạp chất F: (4-clorophenyl)[4-(1-methylethoxy)-phenyl]methanon.

Tạp chất G: 1-methylethyl 2-[[2-[4-(4-clorobenzoyl)phenoxy]-2-methylpropanoyl]oxy]-2-methylpropanoat.

Các halogen biểu thị bằng clorid

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).

Thêm 10 ml *nước cất* vào 5 ml dung dịch S và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 15 ml dung dịch S để thử.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; chân không; 60 °C).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Nước được acid hóa đến pH 2,5 với acid phosphoric - acetonitril (30 : 70).*

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

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg fenofibrat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg fenofibrat chuẩn, 10,0 mg tạp chất A của fenofibrat, 10,0 mg tạp chất chuẩn B của fenofibrat và 20,0 mg tạp chất chuẩn G của fenofibrat trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm), được nhồi với pha tĩnh là *octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 μm).*

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Detector: quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 286 nm.

Thể tích tiêm: 5 μl

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sắc ký sao cho chiều cao của các pic trên sắc ký đồ đạt ít nhất 50 % thang đo. Tiêm dung dịch đối chiếu (1) 6 lần. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của fenofibrat lớn nhất là 1,0 %. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản

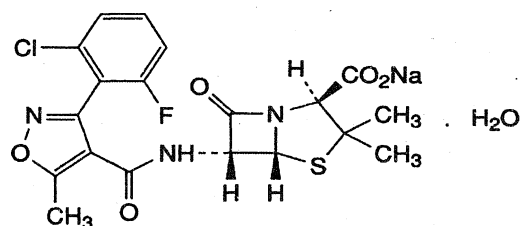
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Giảm lipid máu.

FLUCLOXACILIN NATRI

Flucloxacillinum natrium



$C_{19}H_{16}ClFN_3NaO_5S \cdot H_2O$

P.t.l: 493,9

Flucloxacilin natri là natri (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[[3-(2-cloro-6-fluorophenyl)-5-methylisoxazol-4-yl]carbonyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat, phải chứa từ 95,0 % đến 101,0 % $C_{19}H_{16}ClFN_3NaO_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm, dễ tan trong nước và methanol, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của flucloxacilin natri chuẩn.

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

Bản mỏng: *Silica gel H* đã được silan hóa.

Dung môi khai triển: *Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % được chỉnh pH đến 5,0 bằng acid acetic bằng (30 : 70).*

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 5 ml nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg flucloxacilin natri chuẩn trong 5 ml nước.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg cloxacilin natri chuẩn, 25 mg dicloxacilin natri chuẩn và 25 mg flucloxacilin natri chuẩn trong 5 ml nước.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và đặt bản mỏng vào bình bão hòa hơi iod cho đến khi xuất hiện các vết. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 3 vết tách rõ ràng.

C. Lấy khoảng 2 mg chế phẩm vào một ống nghiệm dài khoảng 15 cm và đường kính trong khoảng 1,5 cm, làm ẩm bằng 0,05 ml nước và thêm 2 ml dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT). Trộn các thành phần trong ống bằng cách lắc mạnh; dung dịch xuất hiện màu vàng lục. Để ống nghiệm trong nồi cách thủy khoảng 1 phút, dung dịch chuyển sang màu vàng.

D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của phép thử định tính natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch S đo ở bước sóng 430 nm không được lớn hơn 0,04.

pH

Dung dịch S có pH từ 5,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +158° đến +168°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

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

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Như mô tả trong mục Định lượng.

Tiêm dung dịch thử (1) và tiến hành sắc ký trong thời gian gấp 6 lần thời gian lưu của pic chính. Tiêm dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1): Diện tích của bất kỳ pic phụ nào, ngoài pic chính, không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1 %); tổng diện tích tất cả các pic phụ, ngoài pic chính, không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (5 %). Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu.

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic

Không được quá 0,8 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Nước

3,0 % đến 4,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Chất gây sốt

Nếu chế phẩm dự định dùng trong sản xuất thuốc tiêm dạng phân liều mà không có phương pháp loại bỏ chất gây sốt thì chế phẩm phải Thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4).

Tiêm 1 ml dung dịch chứa 20 mg chế phẩm trong 1 ml nước cất pha tiêm cho 1 kg trọng lượng thỏ.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm dạng phân liều mà không có phương pháp tiết khuẩn nào khác thì chế phẩm phải đạt phép Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp acetonitril (TT) và dung dịch kali dihydrophosphat 0,27 % (25 : 75), điều chỉnh tới pH 5,0 bằng dung dịch natri hydroxyd loãng (TT).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan 50,0 mg flucloxacilin natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch chuẩn (2): Hòa tan 5 mg flucloxacilin natri chuẩn và 5 mg cloxacilin natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 5,0 ml dung dịch chuẩn (1) thành 50,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch chuẩn (2). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống để chiều cao của pic chính trên các sắc ký đồ thu được ít nhất bằng 50 % thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic cloxacilin (pic thứ 1) và pic flucloxacilin (pic thứ 2) không được nhỏ hơn 2,5.

Tiêm 6 lần dung dịch chuẩn (1), độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic flucloxacilin không được lớn hơn 1,0 %. Tiêm luân phiên dung dịch thử (2) và dung dịch chuẩn (1).

Tính hàm lượng $C_{13}H_{12}F_2N_6O$ trong dung dịch thử dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Bảo quản

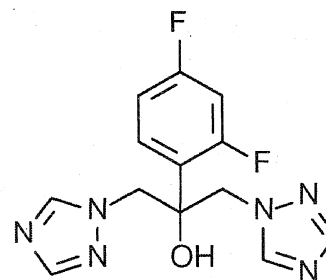
Trong chai lọ nút kín, ở nhiệt độ dưới 25 °C. Nếu là chế phẩm vô khuẩn thì chai lọ đựng phải được tiệt trùng, gắn kín, chống nhiễm khuẩn.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

Chế phẩm

Thuốc nang, dịch treo uống.

FLUCONAZOL***Fluconazolum***

$C_{13}H_{12}F_2N_6O$

P.t.l: 306,3

Fluconazol là 2,4-difluoro-1',1'-bis (1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)benzyl alcol, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{13}H_{12}F_2N_6O$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong methanol, tan trong ethanol, khó tan trong dicloromethan, trong nước và trong acid acetic. Không tan trong ether.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của fluconazol chuẩn.

B. Phổ hấp thụ ánh sáng tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm có nồng độ 200 µg/ml trong *ethanol* 96 % (TT) phải phù hợp với phổ tử ngoại của fluconazol chuẩn được chuẩn bị tương tự.

Khoảng nóng chảy

Từ 138 °C đến 142 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

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

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3)

Pha động: *Nước - acetonitril* (80 : 20).

Dung dịch thử: Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch có chứa 1,0 mg/ml fluconazol chuẩn, 1,0 mg/ml tạp chất chuẩn A của fluconazol, 1,0 mg/ml tạp chất chuẩn B của fluconazol và 1,0 mg/ml tạp chất chuẩn C của fluconazol trong *acetonitril* (TT).

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

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3,5 µm), duy trì nhiệt độ cột ở 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 260 nm.

Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Thời gian lưu của tạp chất A khoảng 4,9 phút, tạp chất B khoảng 8,0 phút, tạp chất C khoảng 8,5 phút và fluconazol khoảng 9,9 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa tạp chất B và tạp chất C ít nhất phải bằng 1,5 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của mỗi chất sau khi tiêm lặp lại ít nhất sáu lần không được lớn hơn 5,0 %.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Tính toán hàm lượng các tạp chất A, B, C và các tạp chất khác dựa vào diện tích pic các tạp chất trên sắc ký đồ dung dịch thử và diện tích trung bình của các pic tạp chất hoặc pic của fluconazol trên các lần tiêm lặp lại dung dịch đối chiếu (2). Từng tạp chất không được lớn hơn 0,1 %, tổng các tạp chất không được lớn hơn 0,3 %.

Ghi chú:

Tạp chất A: [2-[2-fluoro-4-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl]-1,3-bis(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol].

Tạp chất B: [2-(4-fluorophenyl)-1,3-bis(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol].

Tạp chất C: [1,1'-(1,3-phenyl-en)di(1*H*-1,2,4-triazol)].

Sắt

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13)

Cân chính xác 0,50 g chế phẩm hòa tan trong 5 ml *ethanol* 96 % (TT), thêm 5 ml nước, trộn đều.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C; 3 h).

Tro sulfat

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

Dùng 0,50 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6).

Cân chính xác khoảng 0,200 g chế phẩm, hòa tan trong 100 ml *acid acetic* khan (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch *acid perchloric* 0,1 N (CD), xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch *acid perchloric* 0,1 N (CD) tương đương với 15,31 mg C₁₃H₁₂F₂N₆O.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín, ở nhiệt độ dưới 30 °C.

Loại thuốc

Kháng nấm.

Chế phẩm

Nang, viên nén.

NANG FLUCONAZOL

Capsulae Fluconazoli

Là viên nang cứng có chứa fluconazol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu dưới đây:

Hàm lượng fluconazol, C₁₃H₁₂F₂N₆O, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng, bột thuốc trong nang màu trắng hoặc trắng ngà.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Dicloromethan - methanol - amoniac* (80 : 20 : 1).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 0,1 g fluconazol với 10 ml *methanol* (TT), lọc lấy dịch lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,1 g fluconazol chuẩn trong 10 ml *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và màu sắc.

B. Ghi phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch thử trong phần định lượng (Phụ lục 4.1). Phổ hấp thụ này có hai cực đại hấp thụ ở 261 và 267 nm và một cực tiểu hấp thụ ở 264 nm.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc (loại bỏ dịch lọc đầu).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng fluconazol chuẩn trong *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT) để thu được dung dịch có nồng độ tương ứng với nồng độ của dung dịch thử.

Dung dịch vô nang: Cho một vỏ nang rỗng vào một cốc của máy thử độ hòa tan và tiến hành như mẫu thử. Đo độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch vô nang và dung dịch đối chiếu ở cực đại 261 nm (Phụ lục 4.1). Dùng *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT) làm mẫu trắng. Tính lượng fluconazol, $C_{13}H_{12}F_2N_6O$, được hòa tan từ nang. Biết rằng mật độ quang của mẫu thử là hiệu số mật độ quang thu được từ dung dịch thử và dung dịch vô nang.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % lượng fluconazol so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Dung dịch thử: Cân 20 nang thuốc, xác định khối lượng trung bình bột thuốc trong nang. Cân chính xác một lượng bột thuốc trong nang đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 50 mg fluconazol cho vào bình định mức 100 ml, thêm một lượng *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT), lắc kỹ để hòa tan fluconazol, thêm cùng dung môi đến định mức, lắc kỹ và lọc. Loại bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 10,0 ml dịch lọc pha loãng với cùng dung môi thành 25,0 ml.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng fluconazol chuẩn trong *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT) để thu được dung dịch có nồng độ tương ứng khoảng 200 µg/ml.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại 261 nm mẫu trắng là *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT).

Tính hàm lượng fluconazol, $C_{13}H_{12}F_2N_6O$, trong nang dựa vào mật độ quang của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ fluconazol trong dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín, để nơi khô.

Loại thuốc

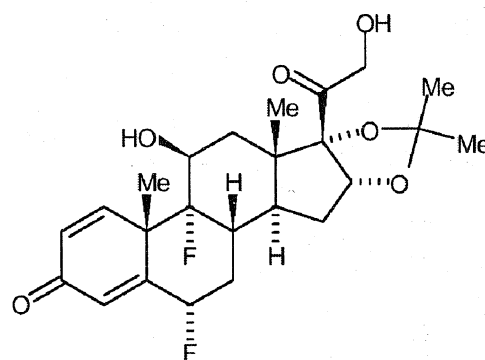
Chống nấm.

Hàm lượng thường dùng

50 mg, 100 mg, 150 mg.

FLUOCINOLON ACETONID

Fluocinolonom acetonidum



$C_{24}H_{30}F_2O_6$

P.t.l: 452,5

Fluocinolone acetonid là 6 α , 9 α -difluoro-11 β ,21-dihydroxy-16 α , 17 α - isopropylidendioxypregna-1,4-dien-3,20 dion, phải chứa từ 96,0 % đến 104,0 % $C_{24}H_{30}F_2O_6$, tính theo chế phẩm đã được làm khô.

Tính chất

Bột tinh thể trắng hoặc hầu như trắng. Thực tế không tan trong nước và trong ether dầu hoả, tan trong aceton và trong ethanol.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của fluocinolone acetonid chuẩn. Nếu phổ của chất chuẩn và chế phẩm được đo ở trạng thái rắn có sự khác nhau thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chất chuẩn trong *ethanol* (TT), bốc hơi cách thủy đến khô và ghi lại phổ của các căn mới thu được.

B. Kiểm tra sắc ký đồ thu được trong mục “Tập chất liên quan”.

Kết quả: Pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) phải có thời gian lưu giống với pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1).

Góc quay cực riêng

Từ +100° đến +104°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol* (TT), pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi.

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 15,0 mg chế phẩm trong *ethanol* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng *ethanol* (TT). Dung dịch có độ hấp thụ cực đại ở 239 nm trong dải sóng từ 225 nm đến 320 nm (Phụ lục 4.1). A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại từ 345 đến 375, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tạp chất liên quan

Kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành tránh ánh sáng.

Pha động: Trộn đều 450 ml *acetonitril* (TT) với 500 ml *nước*, để cân bằng; thêm *nước* vừa đủ 1000,0 ml và trộn đều lại.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *acetonitril* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,5 mg fluocinolon acetamid chuẩn và 2,5 mg *triamcinolon acetamid* trong 45 ml *acetonitril* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *acetonitril* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi bằng *octadecyl silicagel* đã được khóa nhóm OH loại dùng cho sắc ký (5 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 238 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột với pha động ở tốc độ dòng 1 ml/min trong khoảng thời gian 30 phút.

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ không dưới 50 % của thang đo.

Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Với sắc ký đồ được ghi trong điều kiện đã mô tả ở trên: thời gian lưu của *triamcinolon acetamid* khoảng 8,5 phút và của fluocinolon acetamid khoảng 10 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic tương ứng với *triamcinolon acetamid* và fluocinolon acetamid ít nhất là 3,0; nếu cần thiết, điều chỉnh nồng độ *acetonitril* trong pha động.

Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Tiến hành chạy sắc ký trong khoảng thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của fluocinolon acetamid. Trong sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2)

(1,0 %) và chỉ được có 1 pic phụ có diện tích lớn hơn ½ diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %); Tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,5 %). Bỏ qua bất kỳ pic phụ nào có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Định lượng

Tránh ánh sáng trong khi định lượng.

Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT), pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Hút 2,0 ml dung dịch trên, pha loãng thành 100,0 ml với *ethanol* 96 % (TT). Đo độ hấp thụ của dung dịch (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 238 nm.

Tính hàm lượng $C_{24}H_{30}F_2O_6$ theo A (1 %, 1 cm), sử dụng độ hấp thụ riêng là 355.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống viêm steroid.

Chế phẩm

Kem, thuốc mỡ.

KEM FLUOCINOLON

Crethoris Fluocinoloni

Là kem bôi trên da có chứa fluocinolon acetamid.

Hàm lượng fluocinolon, $C_{24}H_{30}F_2O_6$, từ 90,0 % đến 110 % so với lượng ghi trên nhãn.

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

Tính chất

Thuốc kem có màu trắng hoặc trắng hơi ngà, đồng nhất.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic fluocinolon acetamid trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *n*-hexan - cloroform - methanol - triethylamin (60 : 40 : 10 : 1).

Dung dịch thử: Lắc một lượng chế phẩm có chứa khoảng 0,25 mg fluocinolon acetamid với 2 ml *cloroform* (TT), thêm 10 ml *methanol* (TT), lắc mạnh. Làm lạnh

trong nước đá 15 phút, ly tâm 3000 vòng/phút trong 15 phút. Gạn lấy dịch trong phía trên. Làm bay hơi dung dịch thu được tới khô trên cách thủy. Hòa tan cần trong 1 ml *cloroform* (TT).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch fluocinolon acetonid chuẩn 0,025 % trong *cloroform* (TT).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt 5 μ l mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, sấy ở 105 °C trong 5 phút. Phun *dung dịch xanh tetrazolium* (TT) lên bản mỏng còn nóng. Quan sát dưới ánh sáng thường. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về màu sắc và vị trí với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *n-hexan* - *cloroform* - *methanol* - *acid acetic* (58 : 40 : 2 : 0,1).

Dung dịch A: Trộn đều 80 thể tích *methanol* (TT) và 20 thể tích *dung dịch lithi clorid* 25 %.

Chuẩn bị các dung dịch sắc ký:

Thuốc kem có hàm lượng fluocinolon acetonid từ 0,20 % đến 0,025 %

Dung dịch chuẩn: Dung dịch có chứa 0,025 % fluocinolon acetonid chuẩn và 0,005 % phenacetin (chuẩn nội) trong *cloroform* (TT).

Dung dịch thử (1a): Lấy một lượng chế phẩm có chứa khoảng 2,5 mg fluocinolon acetonid. Thêm 60 ml dung dịch A và phân tán bằng cách lắc mạnh. Thêm 100 ml *cyclohexan* (TT), lắc nhẹ nhàng trong 2 phút, để tách lớp. Tách lấy lớp nước *methanol* một cách cẩn thận, tránh không để các tiểu phân rắn ở bề mặt giữa hai lớp lẫn vào. Tiến hành chiết một lần nữa như trên với 25 ml dung dịch A. Gộp các dịch chiết nước - *methanol*, thêm một dung dịch chứa 11 g *phèn chua* (TT) trong 214 ml *nước*, sau đó thêm 50 ml *cloroform* (TT). Lắc mạnh 3 phút, để tách lớp và lọc lớp *cloroform* qua giấy lọc đã thấm ướt trước bằng *cloroform* (TT) (giấy lọc Whatman số 1 là phù hợp), chú ý tránh không để các tiểu phân rắn ở bề mặt giữa hai lớp lẫn vào. Tiếp tục chiết như trên với lần lượt 50 ml và 10 ml *cloroform* (TT). Lọc các dịch chiết *cloroform* qua cùng một giấy lọc trên. Bốc hơi dịch lọc tới khô trên cách thủy. Hòa tan cần thu được trong 5 ml *cloroform* (TT) và chuyển vào bình định mức 10 ml với sự trợ giúp của *cloroform* (TT), pha loãng bằng *cloroform* (TT) vừa đủ 10 ml.

Dung dịch thử (2): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1a), nhưng thêm 1,0 ml dung dịch phenacetin 0,050 % vào dung dịch *cloroform* trước khi pha loãng vừa đủ 10 ml.

Thuốc kem có hàm lượng fluocinolon acetonid 0,01 %

Dung dịch chuẩn: Dung dịch có chứa 0,01 % fluocinolon acetonid chuẩn và 0,002 % phenacetin (chuẩn nội) trong *cloroform*.

Dung dịch thử (1): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1a) ở trên, nhưng sử dụng một lượng chế phẩm có chứa khoảng 1 mg fluocinolon acetonid.

Dung dịch thử (2): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1), nhưng thêm 1,0 ml dung dịch phenacetin 0,02 % vào dung dịch *cloroform* trước khi pha loãng vừa đủ 10 ml.

Thuốc kem có hàm lượng fluocinolon acetonid 0,00625 %

Dung dịch chuẩn: Dung dịch có chứa 0,00625 % fluocinolon acetonid chuẩn và 0,00125 % phenacetin (chuẩn nội) trong *cloroform*.

Dung dịch thử (1): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1a) ở trên, nhưng sử dụng một lượng chế phẩm có chứa khoảng 0,62 mg fluocinolon acetonid.

Dung dịch thử (2): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1), nhưng thêm 1,0 ml dung dịch phenacetin 0,0125 % vào dung dịch *cloroform* trước khi pha loãng vừa đủ 10 ml.

Thuốc kem có hàm lượng fluocinolon acetonid 0,0025 %

Dung dịch chuẩn: Dung dịch có chứa 0,0025 % fluocinolon acetonid chuẩn và 0,0005 % phenacetin (chuẩn nội) trong *cloroform*.

Dung dịch thử (1): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1a) ở trên, nhưng sử dụng một lượng chế phẩm có chứa 0,25 mg fluocinolon acetonid.

Dung dịch thử (2): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1), nhưng thêm 1,0 ml dung dịch phenacetin 0,005 % vào dung dịch *cloroform* trước khi pha loãng vừa đủ 10 ml.

Điều kiện sắc ký :

Cột thép không gỉ (20 cm × 5 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m) (Spherisorb ODS 1 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 243 nm.

Tốc độ dòng: 1,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với các dung dịch chuẩn và các dung dịch thử. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải (Rs) giữa các pic fluocinolon acetonid và phenacetin phải lớn hơn 2, và các hệ số dung lượng (k') của fluocinolon acetonid và phenacetin là khoảng 3 và 2. Nếu các điều kiện trên không đạt được thì điều chỉnh nồng độ *methanol* trong pha động, tăng nồng độ *methanol* để giảm hệ số k' và giảm nồng độ *methanol* để tăng hệ số k'. Nếu điều chỉnh như vậy mà vẫn không thu được các điều kiện qui định thì cột sắc ký không phù hợp. Nếu giá trị k' thu được nằm trong

điều kiện qui định nhưng giá trị R_s dưới 2 thì giảm 5 % nồng độ cloroform trong pha động để tăng thời gian lưu của cả fluocinolon acetonid và phenacetin và điều chỉnh lại giá trị k' tới các trị số qui định bằng cách tăng nồng độ methanol. Lặp lại quá trình điều chỉnh cloroform và methanol cho tới khi thu được các giá trị R_s và k' phù hợp.

Tính hàm lượng (%) fluocinolon acetonid, $C_{24}H_{30}F_2O_6$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{24}H_{30}F_2O_6$ trong fluocinolon acetonid chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Thuốc chống viêm steroid dùng tại chỗ.

Hàm lượng thường dùng

0,01 %, 0,025 %, 0,05 %.

FLUOCINOLON ACETONID DIHYDRAT

Fluocinolonum acetonidum dihydricum

$C_{24}H_{30}F_2O_6 \cdot 2H_2O$

P.t.l: 488,5

Fluocinolon acetonid dihydrat là 6α , 9α -difluoro- 11β , 21 -dihydroxy- 16α , 17α -isopropylidendioxypregna- $1,4$ -dien- $3,20$ dion dihydrat, phải chứa từ 96,0 % đến 104,0 % $C_{24}H_{30}F_2O_6$, tính theo chế phẩm đã được làm khô.

Tính chất

Bột tinh thể trắng hoặc gần như trắng, dễ tan trong acetone, tan trong ethanol, hơi tan trong dicloromethan và trong methanol; thực tế không tan trong hexan và trong nước.

Định tính, góc quay cực riêng, độ hấp thụ ánh sáng, tạp chất liên quan, định lượng và bảo quản

Phải tuân theo các yêu cầu và phương pháp thử như đã mô tả trong chuyên luận "Fluocinolon acetonid".

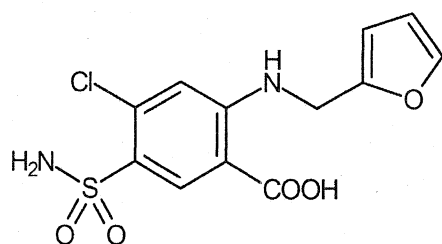
Nước

Từ 7,0 % đến 8,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

FUROSEMID

Furosemidum



$C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$

P.t.l: 330,8

Furosemid là acid 4-cloro-N-furfuryl-5-sulfamoylanthranilic, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$, tính theo chế phẩm đã được làm khô.

Tính chất

Tinh thể hoặc bột kết tinh trắng, không mùi.

Tan trong acetone, hơi tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong nước và dicloromethan. Tan trong các dung dịch kiềm loãng.

Chảy ở khoảng $210^\circ C$ và bị phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của furosemid chuẩn.

B. Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong vùng từ 220 nm đến 350 nm của dung dịch chế phẩm 0,0005 % (kl/tt) trong dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT) có 3 cực đại hấp thụ ở 228 nm, 270 nm và 333 nm. Tỷ số độ hấp thụ ở 270 nm so với ở 228 nm từ 0,52 đến 0,57.

C. Hòa tan khoảng 25 mg chế phẩm trong 10 ml ethanol 96 % (TT). Hút 5 ml dung dịch này và thêm 10 ml nước. Hút 0,2 ml dung dịch mới thu được, thêm 10 ml dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT) và đun hồi lưu 15 phút, để nguội và thêm 18 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT) và 1 ml dung dịch natri nitrit 0,5 %. Để yên 3 phút, thêm 2 ml dung dịch acid sulfamic 2,5 % và trộn đều. Thêm 1 ml dung dịch N-(1-naphthyl)- ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT). Màu đỏ tím sẽ xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 10 ml ethanol 96 % (TT) bằng cách làm nóng, để nguội đến nhiệt độ phòng. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml dung dịch natri hydroxyd 2 % (TT). Dung dịch thu được cũng phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).

Lắc 0,5 g chế phẩm với một hỗn hợp gồm 30 ml nước và 0,2 ml acid nitric (TT) trong 5 phút, để yên 15 phút, lọc. Lấy 15 ml dịch lọc để thử.

Sulfat

Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).

Lắc 1,0 g chế phẩm với một hỗn hợp gồm 0,2 ml dung dịch acid acetic 5 M (TT) và 30 ml nước trong 5 phút, để yên 15 phút, lọc. Lấy 15 ml dịch lọc để thử.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3. Dùng 2,0 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Amin thơm bậc một tự do

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 25 ml *methanol (TT)*. Thêm vào 1 ml *dung dịch này* 3 ml *dimethylformamid (TT)*, 12 ml *nước* và 1 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT)*. Làm nguội, thêm tiếp 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,5 %*. Lắc, để yên 5 phút. Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfamic 2,5 %*. Để yên 3 phút, thêm 1 ml *dung dịch N-(1-naphthyl)-ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT)* và pha loãng với *nước* vừa đủ 25 ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của *dung dịch* thu được ở bước sóng 530 nm. Mẫu trắng được chuẩn bị bằng cách lấy 1 ml *methanol (TT)*, thêm 3 ml *dimethyl-formamid (TT)* rồi tiếp tục làm như trên. Độ hấp thụ không được quá 0,12.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 4 h).

Tro sulfat

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

Định lượng

Cân 0,250 g chế phẩm, hòa tan trong 20 ml *dimethyl-formamid (TT)*, thêm 0,2 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tới khi màu của *dung dịch* chuyển từ màu vàng sang màu xanh. Song song tiến hành mẫu trắng.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 33,075 mg $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc lợi tiểu.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN FUROSEMID

Tabellae Furosemid

Là viên nén chứa furosemid.

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

Hàm lượng furosemid, $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của *dung dịch* thử trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 320 nm phải có 2 cực đại ở 228 nm và 271 nm.

B. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 25 mg furosemid với 10 ml *ethanol (TT)*, lọc và bốc hơi *dịch* lọc trên cách thủy tới khô. Hòa tan cặn trong 2,5 ml *ethanol (TT)* và thêm 2 ml *dung dịch dimethylamino-benzaldehyd (TT)*, màu xanh lá tạo thành, sau đó chuyển sang màu đỏ sẫm.

Các amin thơm tự do

Lấy một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g furosemid, thêm 25 ml *methanol (TT)*, lắc và lọc. Lấy 1 ml *dịch* lọc, thêm 3 ml *dimethylformamid (TT)*, 12 ml *nước* và 1 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT)*. Làm lạnh, thêm 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,5 %*, lắc và để yên 5 phút. Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfamic 2,5 %*, lắc và để yên 3 phút. Thêm 1 ml *dung dịch N-(1-naphthyl) ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT)* và pha loãng với *nước* thành 25 ml. Đo độ hấp thụ của *dung dịch* này ở bước sóng 530 nm (Phụ lục 4.1). Tiến hành pha *dung dịch* mẫu trắng trong cùng điều kiện như trên nhưng thay 1 ml *dịch* lọc bằng 1 ml *methanol (TT)*.

Độ hấp thụ của *dung dịch* không được quá 0,20.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch đệm phosphat pH 5,8*.

Cách pha *dung dịch đệm phosphat pH 5,8*: Hòa tan 1,19 g *dinatri hydrophosphat dihydrat (TT)* và 8,25 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* đến vừa đủ 1000 ml.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần *dung dịch* môi trường sau khi hòa tan chế phẩm, lọc (bỏ 20 ml *dịch* lọc đầu), pha loãng *dịch* lọc bằng môi trường hòa tan để thu được *dung dịch* có nồng độ furosemid khoảng 0,001 % (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của *dung dịch* thu được ở bước sóng cực đại 277 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch đệm phosphat pH 5,8* làm mẫu trắng. Tiến hành đo song song với *dung dịch* furosemid chuẩn có nồng độ 0,001 % pha trong *dung dịch đệm phosphat pH 5,8*. Tính lượng furosemid, $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$, hòa tan trong viên.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % lượng furosemid, $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột

viên tương ứng với 20 mg furosemid cho vào bình định mức 100 ml và lắc với 60 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* trong 10 phút. Thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* đến định mức, lắc đều. Lọc và bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 5 ml dung dịch lọc này vào bình định mức 100 ml, pha loãng đến định mức bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 271 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng furosemid, $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 580 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 271 nm.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín hoặc ép vi bầm, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc lợi tiểu.

Hàm lượng thường dùng

20 mg; 40 mg.

GELATIN

Gelatinum

Gelatin là một protein tinh khiết thu được bằng cách thủy phân acid một phần (dạng A) hoặc thủy phân kiềm một phần (dạng B) collagen động vật (kể cả cá và gia cầm). Gelatin cũng có thể là hỗn hợp của nhiều loại khác nhau. Quá trình thủy phân tạo ra các sản phẩm dạng gel hoặc không phải dạng gel. Chuyên luận này được áp dụng cho cả hai loại sản phẩm trên.

Gelatin được mô tả trong chuyên luận này chưa thích hợp cho các chế phẩm dùng để tiêm hoặc cho các mục đích đặc biệt khác.

Tính chất

Chất rắn không mùi, màu vàng nhạt đến màu vàng nâu sáng, thường ở dạng phiến trong, mờ, mảnh vụn, hạt hoặc bột.

Độ hòa tan

Gelatin thực tế không tan trong các dung môi hữu cơ thông thường. Gelatin dạng gel trương nở trong nước lạnh và khi đun nóng cho dung dịch keo, dung dịch keo này khi làm lạnh tạo thành gel cứng hoặc mềm. Điểm đẳng điện là một đặc tính quan trọng nói lên chất lượng của gelatin trong nhiều ứng dụng: điểm đẳng điện của gelatin dạng A nằm trong khoảng pH từ 6,0 và 9,5; và khoảng đặc trưng của gelatin dạng B là giữa pH 4,7 và 5,6. Những khoảng giới hạn này áp dụng cho nhiều loại gelatin, trong trường hợp những ứng dụng cụ thể thường sử dụng giới hạn hẹp hơn.

Định tính

A. Thêm 0,05 ml *dung dịch đồng sulfat 12,5 % (TT)* vào 2 ml dung dịch S (xem mục Độ trong và màu sắc của dung dịch). Trộn đều và thêm 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*. Màu tím được tạo thành.

B. Thêm vào 0,5 g chế phẩm trong một ống nghiệm chứa 10 ml nước. Để yên 10 phút, đun nóng ở 60 °C trong 15 phút và giữ ống thẳng đứng ở 0 °C trong 6 giờ. Xoay ngược ống, chế phẩm chứa trong ống lập tức chảy ra ngoài nếu là dạng không tạo gel và không được chảy ra ngoài ngay lập tức nếu là dạng gel.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) ở khoảng 55 °C, pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi và giữ dung dịch ở nhiệt độ này để tiến hành các phép thử.

Dung dịch S không được có màu đậm hơn màu mẫu V₄ (Phụ lục 9.3, Phương pháp 2) và dung dịch S được chuẩn bị từ gelatin dạng A hoặc dạng B không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu IV (Phụ lục 9.2). Hỗn hợp của gelatin dạng A và dạng B có thể cho dung dịch đục do sự hình thành keo tụ trên một khoảng rộng pH, phụ thuộc vào nồng độ.

pH

Dung dịch S có pH từ 3,8 đến 7,6 (Phụ lục 6.2).

Độ dẫn điện

Tối đa 1 mS.cm⁻¹, xác định trên dung dịch 1,0 % tại (30 ± 1,0) °C.

Lưu huỳnh dioxyd

Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 7.9, phương pháp 2).

Peroxyd

Không được quá 0,01 %.

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml nước bằng cách đun nóng và thêm 2 ml *dung dịch divanadi pentoxyd trong acid sulfuric (TT)*. Bất kỳ màu vàng cam nào của dung dịch cũng không được đậm hơn màu mẫu đối chiếu được chuẩn bị trong cùng điều kiện với một hỗn hợp của 1 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 0,01 %* và 9 ml nước.

Độ bền gel

Phải đạt từ 80 % đến 120 % giá trị ghi trên nhãn của chế phẩm.

Nếu dự định sử dụng để pha chế thuốc trứng, thuốc đạn hoặc gelatin kềm, gelatin phải đáp ứng thêm yêu cầu về độ bền gel: 150 g đến 250 g. Độ bền gel là khối lượng tính ra gam cần thiết để tạo ra một lực tác dụng lên piston có đường kính 12,7 mm gây nên một sự lún sâu 4 mm trong gel có nồng độ 6,67 % (kl/kl) và đã làm đông ở 10 °C.

Máy: Máy đo độ bền gel bao gồm:

Một piston hình trụ có đường kính ($12,7 \pm 0,1$) mm với bề mặt áp lực phẳng có cạnh tròn (bán kính 0,5 mm).

Một thiết bị điều chỉnh chiều cao của chai chứa gel sao cho bề mặt gel đến tiếp xúc với piston mà không sử dụng áp lực.

Một thiết bị mà nhờ đó tải trọng piston sử dụng có thể được tăng ở tốc độ không đổi 40 g/s.

Một thiết bị mà nhờ đó chuyển động thẳng đứng của piston có thể được dừng lại trong vòng 1/40 giây khi đã lún sâu ($4 \pm 0,1$) mm.

Một thiết bị đo (cân) mà nhờ đó tải trọng cuối cùng có thể được đo với độ chính xác $\pm 0,5$ g.

Một chai có đường kính trong (59 ± 1) mm và cao 85 mm.

Tiến hành: Cho 7,5 g chế phẩm vào chai. Thêm 105 ml nước, đầy chai bằng mặt kính đồng hồ và để yên trong 3 giờ. Đun nóng trong cách thủy ở 65°C trong 15 phút. Trong khi đun khuấy nhẹ nhàng bằng đũa thủy tinh. Khi dung dịch đã đồng nhất và không còn nước ngưng tụ trên thành trong của chai, để ở nhiệt độ phòng trong 15 phút và chuyển chai vào bình được điều nhiệt ở ($10 \pm 0,1$) $^\circ\text{C}$ và được lắp một thiết bị thích hợp để đảm bảo bề mặt trên đó đặt chai nằm ngang hoàn toàn. Đậy chai bằng nút cao su và để yên trong 16 đến 18 giờ. Chuyển ngay chai vào máy đo độ bền gel và điều chỉnh sao cho piston tiếp xúc với bề mặt gel mà không sử dụng áp lực. Tăng tải trọng trên piston ở tốc độ 40 g/s đến khi piston đã lún sâu ($4 \pm 0,1$) mm. Trọng tải mà piston sử dụng tại thời điểm đó, tính ra gam, biểu thị độ bền của gel.

Tiến hành xác định ít nhất 3 lần và lấy giá trị trung bình.

Giới hạn sắt

Không được quá 30 phần triệu.

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

Dung dịch thử: cân 5,0 g chế phẩm vào bình nón nút mài, thêm 10 ml acid hydrochloric (TT). Đậy nút, đun cách thủy ở 75°C đến 80°C trong 2 giờ. Để nguội, pha loãng dung dịch trong bình với nước thành 50 ml.

Dung dịch đối chiếu: chuẩn bị dung dịch chuẩn sắt nồng độ 3 phần triệu.

Bước sóng: 248,3 nm

Giới hạn crom

Không được quá 10 phần triệu.

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

Dung dịch thử: dùng dung dịch thử trong phần giới hạn sắt.

Dung dịch đối chiếu: chuẩn bị dung dịch chuẩn crom nồng độ 1 phần triệu.

Bước sóng: 357,9 nm.

Giới hạn kẽm

Không được quá 30 phần triệu.

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

Dung dịch thử: pha loãng 5 ml dung dịch thử ở phần giới hạn sắt với nước thành 25 ml.

Dung dịch đối chiếu: chuẩn bị dung dịch chuẩn kẽm nồng độ 0,6 phần triệu.

Bước sóng: 213,9 nm.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 15,0 %, (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100°C đến 105°C).

Độ nhiễm khuẩn

Tổng số vi khuẩn hiếu khí có khả năng sống lại được không được quá 1000 trong 1 g chế phẩm. Xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6).

Chế phẩm phải không có *Escherichia coli* và *Salmonella* (Phụ lục 13.6).

Bảo quản

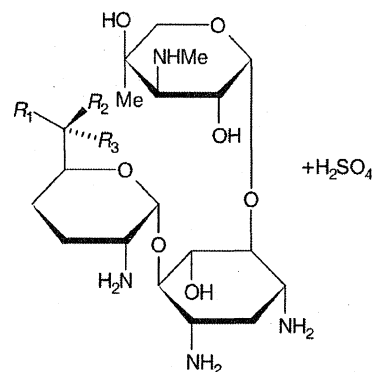
Bảo quản trong chai lọ kín.

Ghi nhãn

Nhãn ghi rõ độ bền gel nếu gelatin dự định sử dụng cho pha chế thuốc trứng, thuốc đạn hoặc gelatin kẽm.

GENTAMICIN SULFAT

Gentamicini sulfas



Gentamicin	R ₁	R ₂	R ₃
C ₁	Me	NHMe	H
C ₂	Me	NH ₂	H
C _{1a}	H	NH ₂	H
C _{2a}	H	NH ₂	Me

Gentamicin sulfat là hỗn hợp kháng khuẩn được sản sinh bởi *Micromonospora purpurea*. Thành phần chính gồm gentamicin C₁; C_{1a}; C₂ và C_{2a}.

Hàm lượng

Không được ít hơn 590 đvqt/mg tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, thực tế không trong ethanol 96 % và ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: C, D.

Nhóm II: A, B, D.

A. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 1 ml nước, thêm 5 ml dung dịch acid sulfuric 40 % (TT). Đun nóng trên cách thủy trong 100 phút, làm nguội và pha loãng thành 25 ml với nước. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ 240 nm đến 330 nm không có cực đại hấp thụ.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Hỗn hợp đồng thể tích của amoniac - methanol - methylen clorid. Lắc kỹ, để yên cho tách lớp, lấy lớp dưới.

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg gentamicin sulfat chuẩn trong nước và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí. Phun bản mỏng với dung dịch ninhydrin (TT). Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 phút.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho 3 vết chính tương ứng với 3 vết chính của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) ở phần thử thành phần gentamicin.

Trên sắc ký đồ dung dịch thử phải cho 4 pic tương ứng với 4 pic của dung dịch đối chiếu về thời gian lưu.

D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của phép thử định tính của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,8 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn thang màu số 6 của màu giống nhất (Phụ lục 9.3; phương pháp 2).

pH

Từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch S.

Góc quay cực riêng

Từ +107° đến +121°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Methanol

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.14, hệ sắc ký B)

Thành phần gentamicin

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 5,5 g natri heptansulfonat (TT) trong hỗn hợp gồm 50 ml acid acetic băng (TT), 250 ml nước và 700 ml methanol (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Hút 10,0 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml methanol (TT) và 4 ml thuốc thử phthalaldehyd (TT); trộn đều và pha loãng thành 25,0 ml với methanol (TT). Đun nóng hỗn hợp thu được trong cách thủy ở 60 °C trong 15 phút, làm nguội đến nhiệt độ phòng. Nếu dung dịch thử không dùng ngay, làm lạnh ở nhiệt độ 0 °C và sử dụng trong vòng 4 giờ kể từ khi chuẩn bị dung dịch.

Dung dịch đối chiếu: Cân 0,10 g gentamicin sulfat chuẩn, tiến hành tương tự như phần chuẩn bị dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tinh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 330 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch đối chiếu. Với điều kiện sắc ký như trên, thời gian lưu của thành phần C₂ khoảng 10 đến 20 phút. Thời gian lưu tương đối của thuốc thử so với thành phần C₂ khoảng 0,13; của thành phần C₁ bằng khoảng 0,27; của thành phần C_{1a} khoảng 0,65 và của thành phần C_{2a} khoảng 0,85. Hệ thống chỉ thích hợp khi độ phân giải giữa pic của thành phần C_{2a} và pic của thành phần C₂ ít nhất phải bằng 1,3. Điều chỉnh lượng methanol trong pha động nếu cần thiết.

Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic tương ứng với thành phần C₁ bằng khoảng 75 % của thang đo, đường nền được kẻ từ điểm xuất phát của pic thuốc thử. Đo chiều cao các pic tương ứng với các thành phần gentamicin.

Tính hệ số đáp ứng (R_x) của các thành phần theo công thức sau:

$$R_x = \frac{H_x}{F_x}$$

Trong đó:

F_x là tỷ lệ phần trăm của thành phần C_x trong gentamicin sulfat đối chiếu;

H_x là chiều cao pic của thành phần C_x trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tiêm dung dịch thử và tiến hành tương tự như dung dịch đối chiếu. Đo chiều cao các pic tương ứng với các thành phần gentamicin. Tính tỷ lệ phần trăm của các thành phần C₁; C_{1a}; C₂ và C_{2a} trong chế phẩm theo công thức sau:

$$C_x (\%) = \frac{\frac{H'_x}{R_x}}{\frac{H'_1}{R_1} + \frac{H'_{1a}}{R_{1a}} + \frac{H'_{2a}}{R_{2a}} + \frac{H'_2}{R_2}}$$

Trong đó:

H'_x là chiều cao pic tương ứng với thành phần C_x trên sắc ký đồ của dung dịch thử.

Tỷ lệ phần trăm các thành phần gentamicin phải nằm trong giới hạn sau:

Thành phần C_1 : từ 25,0 % đến 50,0 %.

Thành phần C_{1a} : từ 10,0 % đến 35,0 %.

Tổng thành phần C_2 và C_{2a} : từ 25,0 % đến 55,0 %.

Nước

Không được quá 15,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 0,50 g chế phẩm.

Sulfat

Phải từ 32,0 % đến 35,0 % sulfat (SO_4) tính theo chế phẩm khan.

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 100 ml nước, điều chỉnh pH của dung dịch thu được đến 11 bằng amoniac đậm đặc (TT). Thêm 10,0 ml dung dịch bari clorid 0,1 M (CĐ) và thêm khoảng 0,5 mg phthalein đỏ tía (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ), khi dung dịch bắt đầu chuyển màu thêm 50 ml ethanol 96 % (TT) và tiếp tục chuẩn độ cho đến khi mất màu xanh tím.

1 ml dung dịch bari clorid 0,1 M (CĐ) tương đương với 9,606 mg sulfat (SO_4).

Thử vô khuẩn

Chế phẩm phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7) nếu chế phẩm được dùng để pha chế thuốc tiêm và thuốc nhỏ mắt mà không tiến hành phương pháp tiệt trùng thích hợp.

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,71 đơn vị nội độc tố vi khuẩn trong 1 mg gentamycin (Phụ lục 13.2) nếu chế phẩm được dùng để pha thuốc tiêm mà không áp dụng phương pháp loại bỏ nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín. Nếu chế phẩm vô khuẩn, đựng trong đồ bao gói vô khuẩn, kín và đảm bảo.

Nhãn

Phải ghi rõ nếu chế phẩm vô khuẩn và không có nội độc tố vi khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Kem thuốc, thuốc nhỏ mắt, thuốc tiêm, thuốc mỡ.

THUỐC NHỎ MẮT GENTAMICIN

Collyrium Gentamicini

Thuốc nhỏ mắt gentamicin là dung dịch vô khuẩn của gentamicin sulfat trong nước, có thể có thêm tá dược thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng gentamicin từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

pH

6,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Định tính

A. Sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Sau khi lắc đều và để tách lớp, lấy lớp dưới của hỗn hợp đồng thể tích cloroform - amoniac - methanol.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan gentamicin sulfat trong nước để thu được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chế phẩm với nước để thu được dung dịch có nồng độ gentamicin sulfat khoảng 1 mg/ml.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt 20 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Để khô vết chấm. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều cao của bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phát hiện vết trên hơi iod hoặc phun dung dịch ninhydrin 0,3 % trong ethanol (TT) và sấy bản mỏng ở nhiệt độ 105 °C trong 5 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 3 vết chính tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với 3 vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Trong phép thử Thành phần của gentamicin sulfat, trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, thời gian lưu của 4 pic chính phải tương đương với thời gian lưu của 4 pic chính trên sắc ký thu được từ dung dịch chuẩn.

Thành phần của gentamicin sulfat

Tiến hành theo phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Pha dung dịch natri heptansulfonat monohydrat 0,025 M trong hỗn hợp dung môi: Methanol - nước - acid acetic băng (70 : 25 : 5).

Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch gentamicin sulfat chuẩn 0,065 % trong nước. Lấy 10 ml dung dịch thu được cho vào bình định mức dung tích 25 ml, thêm 5 ml *methanol* (TT), lắc kỹ. Thêm vào hỗn hợp 4 ml *thuốc thử phthalaldehyd* (TT), trộn đều. Bổ sung *methanol* (TT) tới định mức. Đun nóng 60 °C trong cách thủy 15 phút, để nguội. Nếu dung dịch không dùng ngay, cần bảo quản lạnh ở 0 °C và sử dụng trong vòng 4 giờ.

Dung dịch thử: Chuẩn bị như dung dịch chuẩn, nhưng thay 10 ml dung dịch gentamicin sulfat chuẩn bằng 10 ml chế phẩm thử đã được pha loãng với nước để thu được dung dịch có nồng độ tương đương 0,045 % gentamicin.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm đến 12,5 cm × 4,6 mm đến 5,0 mm) nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 330 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu của thành phần C₂ từ 10 phút đến 20 phút và các pic được tách hoàn toàn với các thời gian lưu tương đối so với thành phần C₂ (thành phần C₂: 1,00) như sau: Thuốc thử: 0,13; thành phần C₁: 0,27; thành phần C_{1a}: 0,65; thành phần C_{2a}: 0,85.

Điều chỉnh độ nhạy để chiều cao pic của thành phần C₁ chiếm khoảng 75 % thang đo. Kẻ một đường ngang trên sắc ký đồ nối chân các pic, đo chiều cao của mỗi pic. Cũng tiến hành như vậy với dung dịch thử. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa các pic của thành phần C_{2a} và C₂ không nhỏ hơn 1,3.

Từ chiều cao của các pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và các tỷ lệ thành phần tương ứng đã biết trong dung dịch chuẩn, tính được tỷ lệ các thành phần C₁, C_{1a}, C_{2a} và C₂ trong chế phẩm thử theo cách tính ở mục Thành phần gentamycin trong chuyên luận Gentamycin sulfat.

Các tỷ lệ phải nằm trong giới hạn sau:

C₁: 25,0 % đến 50,0 %.

C_{1a}: 10,0 % đến 35,0 %.

C₂ + C_{2a}: 25,0 % đến 55,0 %.

Định lượng

Theo phương pháp "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).

Tính hàm lượng gentamicin trong thuốc nhỏ mắt, 1 mg gentamicin base tương ứng với 1000 UI.

Bảo quản

Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

0,3 %.

THUỐC TIÊM GENTAMICIN

Injectio Gentamicini

Thuốc tiêm gentamicin là dung dịch vô khuẩn chứa gentamicin sulfat trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng gentamicin, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

pH

3,0 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi: Sau khi lắc đều và để tách lớp, lấy lớp dưới của hỗn hợp đồng thể tích *amoniac - cloroform - methanol*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg gentamicin sulfat chuẩn trong 10 ml nước.

Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm với nước để được dung dịch chứa khoảng 1 mg gentamicin sulfat trong 1 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 20 μl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Sau khi triển khai dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy ra để khô ngoài không khí. Phát hiện trong hơi iod hoặc phun *dung dịch ninhydrin trong ethanol* (TT) và sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 3 vết chính có cùng giá trị R_f và màu sắc với ba vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Trong phép thử Thành phần của gentamicin sulfat, thời gian lưu của 4 pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương đương với thời gian lưu của 4 pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu.

Thành phần của gentamicin sulfat

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Pha dung dịch *natri heptansulfonat monohydrat* 0,025 M trong hỗn hợp: *Methanol - nước - acid acetic băng* (70 : 25 : 5).

Dung dịch chuẩn: Thêm 5 ml *methanol* (TT) vào 10 ml dung dịch gentamicin sulfat chuẩn có nồng độ 0,065 %, lắc đều và thêm 4 ml *thuốc thử phthalaldehyd* (TT), lắc đều và thêm *methanol* (TT) vừa đủ 25 ml. Đun trong cách thủy ở 60 °C, trong 15 phút, để nguội. Nếu dung dịch không dùng ngay, để lạnh ở 0 °C và sử dụng trong vòng 4 giờ.

Dung dịch thử: Cũng chuẩn bị như trên nhưng thay 10 ml dung dịch gentamicin sulfat chuẩn bằng 10 ml dung dịch thử có nồng độ khoảng 0,045 % gentamicin.

Điều kiện sắc ký: Cột thép không gỉ (10 đến 12,5 cm × 4,6 đến 5 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm) (cột ODS Hypersil là thích hợp).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 330 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu của thành phần C₂ từ 10 đến 20 phút và các pic được tách hoàn toàn với các thời gian lưu tương đối (so với thành phần C₂: 1,00) như sau: Thuốc thử: 0,13; thành phần C₁: 0,27; thành phần C_{1a}: 0,65; thành phần C_{2a}: 0,85.

Điều chỉnh độ nhạy để chiều cao pic của thành phần C₁ chiếm khoảng 75 % của thang đo. Kẻ một đường ngang trên sắc ký đồ nối chân các pic, đo chiều cao của mỗi pic. Cũng tiến hành như vậy với dung dịch thử. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa các pic của thành phần C_{2a} và C₂ không nhỏ hơn 1,3.

Từ chiều cao của các pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và các tỷ lệ thành phần tương ứng đã biết trong dung dịch chuẩn, tính được tỷ lệ các thành phần C₁, C_{1a}, C_{2a}, C₂ trong chế phẩm thử theo cách tính ở mục Thành phần gentamycin trong chuyên luận Gentamycin sulfat.

Các tỷ lệ phải nằm trong giới hạn sau:

C₁: 25,0 % đến 50,0 %.

C_{1a}: 10,0 % đến 35,0 %.

C₂ + C_{2a}: 25,0 % đến 55,0 %.

Nội độc tố vi khuẩn

Tiến hành theo chuyên luận “Phép thử nội độc tố vi khuẩn” (Phụ lục 13.2).

Pha loãng dung dịch tiêm nếu cần thiết với nước BET để có nồng độ tương đương khoảng 10 mg gentamicin/ml (Dung dịch A). Giới hạn nồng độ nội độc tố vi khuẩn của dung dịch A là 16,7 EU trong 1 ml. Tiến hành phép thử sử dụng giá trị pha loãng cực đại của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Định lượng

Tiến hành theo chuyên luận “Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật” (Phụ lục 13.9).

Hoạt lực lý thuyết của gentamycin là 1000 đơn vị (IU) trong 1 mg.

Bảo quản

Đề ở nơi mát, không quá 25 °C.

Loại thuốc

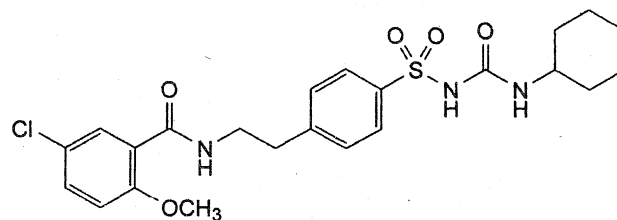
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

80 mg/2 ml; 40 mg/1 ml và 40 mg/2 ml.

GLIBENCLAMID

Glibenclamidum



C₂₃H₂₈ClN₃O₅S

P.t.l: 494,0

Glibenclamid là 1-[[4-[2-[(5-Chloro-2-methoxy-benzoyl)-amino]ethyl]phenyl]sulphonyl]-3-cyclohexylurea, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % C₂₃H₂₈ClN₃O₅S, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.

Thực tế không tan trong nước, ít tan trong methylen clorid, hơi tan trong ethanol 96 % và methanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: A, B, D, E.

A. Điểm chảy

Từ 169 °C đến 174 °C (Phụ lục 6.7).

B. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *methanol* (TT), nếu cần lắc siêu âm, và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Lấy 10,0 ml dung dịch này thêm 1,0 ml *dung dịch acid hydrochloric* 10,3 % và pha loãng thành 100,0 ml với *methanol* (TT). Đo phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm. Phổ thu được có các hấp thụ cực đại ở bước sóng 300 nm và 275 nm. Giá trị A (1 %, 1 cm) tương ứng là 61 đến 65 và 27 đến 32.

C. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của glibenclamid chuẩn. Nếu phổ thu được của mẫu chuẩn và mẫu thử khác nhau thì làm ẩm riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn với *methanol* (TT), nghiền nhỏ, sấy khô ở 100 °C đến 105 °C và đo lại phổ hồng ngoại.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethanol 96 % - acid acetic băng - cyclohexan - methylen clorid (5 : 5 : 45 : 45).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp đồng thể tích *methanol* (TT) và *methylen clorid* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg glibenclamid chuẩn trong hỗn hợp đồng thể tích *methanol* (TT) và *methylen clorid* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Cánh tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

E. Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 2 ml *acid sulfuric* (TT). Dung dịch không màu và có huỳnh quang xanh lam dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Thêm 0,1 g *cloral hydrat* (TT) vào dung dịch, lắc cho tan. Trong vòng 5 phút, dung dịch có màu vàng đậm và sau khoảng 20 phút màu nâu nhẹ xuất hiện.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg tạp chất chuẩn A của glibenclamid và 5,0 mg tạp chất chuẩn B của glibenclamid trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml với *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với *methanol* (TT). Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml với *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg gliclazid chuẩn trong *methanol* (TT), thêm 2 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100 ml với *methanol* (TT). Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 10 ml với *methanol* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).

Nhiệt độ cột: 35 °C.

Pha động:

Pha động A: Trộn 20 ml *dung dịch triethylamin* (vừa mới được cất lại) 10,18 % được điều chỉnh về pH 3,0 bằng *acid phosphoric* (TT) và 50 ml *acetonitril* (TT), pha loãng thành 1000 ml với *nước*.

Pha động B: Pha động A - *nước* - *acetonitril* (20 : 65 : 915).

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	45	55
15 - 30	45 → 5	55 → 95
30 - 40	5	95
40 - 41	5 → 45	95 → 55
41 - 55	45	55

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Tính thích hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa hai pic glibenclamid và gliclazid không được nhỏ hơn 5,0.

Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (2). Thời gian lưu tương đối so với glibenclamid (thời gian lưu khoảng 5 phút) của tạp chất A khoảng 0,5; tạp chất B khoảng 0,6.

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %), diện tích của pic tương ứng với tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %), diện tích của bất kỳ pic tạp nào khác không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %); không quá hai pic tạp này có diện tích lớn hơn một nửa diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %). Tổng diện tích các pic tạp khác, trừ tạp chất A và B không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 5-cloro-2-methoxy-N-[2-(4-sulphamoylphenyl)ethyl]benzamid

Tạp chất B: Methyl [[4-[2-[(5-cloro-2-methoxybenzoyl)amino]ethyl]phenyl]sulphonyl]carbamate.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm, tiến hành thử theo phương pháp 4.

Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 100 ml *ethanol* 96 % (TT) bằng cách làm nóng. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (CĐ); dùng 1 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT) làm chỉ thị cho đến khi màu hồng xuất hiện.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (CĐ) tương ứng với 49,40 mg C₂₃H₂₈ClN₃O₅S.

Bảo quản

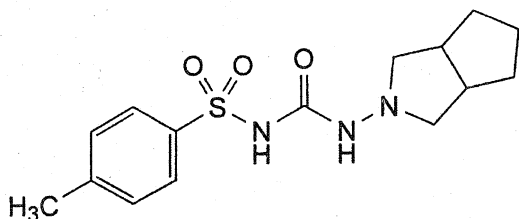
Đựng trong lọ nút kín.

Loại thuốc

Thuốc chống đái tháo đường.

Chế phẩm

Viên nén.

GLICLAZID**Gliclazidum**C₁₅H₂₁N₃O₃S

P.t.l:323,4

Gliclazid là 1-(hexahydrocyclopenta[c]pyrrol-2(1H)-yl)-3-[(4-methylphenyl) sulphonyl] ure, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % C₁₅H₂₁N₃O₃S, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong methylen clorid, hơi tan trong acetone, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

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

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Triethylamin - acid trifluoroacetic - acetonitril - nước (0,1 : 0,1 : 45 : 55).

Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 23 ml acetonitril (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng hỗn hợp acetonitril - nước (45 : 55). Pha loãng 10,0 ml dung dịch trên thành 100,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch phân giải: Hòa 5 mg chế phẩm và 15 mg tạp chất chuẩn F của gliclazid trong 23 ml acetonitril (TT) và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 20 ml bằng hỗn hợp acetonitril - nước (45 : 55).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg tạp chất chuẩn F của gliclazid trong 45 ml acetonitril (TT) và pha loãng thành 100 ml bằng nước. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng hỗn hợp acetonitril - nước (45 : 55).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 μm).

Tốc độ dòng: 0,9 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 235 nm.

Thể tích tiêm: 20 μl

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của 2 pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải ít nhất bằng 50 %

của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic chính trên sắc ký đồ ít nhất là 1,8.

Tiêm dung dịch đối chiếu (1), (2) và dung dịch thử. Tiến hành chạy sắc ký của dung dịch thử với thời gian gấp đôi thời gian lưu của gliclazid. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử : diện tích của pic tương ứng với pic tạp chất F, không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %); diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính và pic tạp chất F không được lớn hơn diện tích pic của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %), tổng diện tích của các pic phụ này không được lớn hơn 2 lần diện tích pic của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %). Bỏ qua các pic có diện tích pic nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1).

Ghi chú:

Tạp chất E: 1-[(4-methylphenyl)sulphonyl]-3-(3,3a,4,6a-tetrahydrocyclopenta[c]pyrrol-2(1H)-yl)ure.

Tạp chất F: 1-(hexahydrocyclopenta[c]pyrrol-2(1H)-yl)-3-[(2-methylphenyl)sulphonyl]ure.

Tạp chất B của gliclazid

Không được quá 2 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với các điều kiện sắc ký được mô tả trong phần tạp chất liên quan.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 2,5 ml dimethyl sulfoxid (TT) và pha loãng thành 10,0 ml bằng nước. Khuấy trong 10 phút, để ở 4 °C trong 30 phút và lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg tạp chất chuẩn B của gliclazid (2-nitroso-octahydrocyclopenta[c]pyrrol) trong dimethyl sulfoxid (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch này, thêm 12 ml dimethyl sulfoxid (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1), thêm 12 ml dimethyl sulfoxid (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng nước.

Cách tiến hành: Tiêm 50 μl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử: diện tích của pic tương ứng với tạp chất B không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2)

Kim loại nặng

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

Lấy 1,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 6. Dùng 1,5 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,25 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 2 h).

Tro sulfat

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

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 32,34 mg $C_{15}H_{21}N_3O_3S$.

Loại thuốc

Chống đái tháo đường.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN GLICLAZID**Tabellae Gliclazidi**

Là viên nén chứa gliclazid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng gliclazid, $C_{15}H_{21}N_3O_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Cân một lượng bột viên tương ứng với 0,4 g gliclazid, chiết hai lần, mỗi lần với 10 ml *cloroform* (TT). Tập trung các dịch chiết cloroform và lọc. Bay hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô, sấy cân ở 105 °C. Lấy một ít cân, thêm từng giọt *pyridin* (TT) cho đến khi gần như tan hoàn toàn, thêm 5 giọt *dung dịch đồng sulfat 12,5 %* (TT), lắc. Xuất hiện màu tím lam.
B. Hòa tan cân thu được trong phép thử A với *ethanol 96 %* (TT) để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 10 µg/ml. Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch có hấp thụ cực đại ở khoảng 228 nm.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 7,4* (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (loại bỏ dịch lọc đầu). Nếu cần, pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ gliclazid khoảng 12,5 µg/ml. Pha dung dịch chuẩn như sau: Hòa tan 62,0 mg gliclazid chuẩn trong 20 ml *methanol* (TT), thêm môi trường hòa tan vừa đủ 100,0 ml và pha loãng 2 ml

dung dịch thu được thành 100,0 ml với môi trường hòa tan. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch ở bước sóng 226 nm và 290 nm trong cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Hiệu chỉnh độ hấp thụ đo được ở 226 nm bằng cách trừ độ hấp thụ đo được ở 290 nm. Tính hàm lượng gliclazid, $C_{15}H_{21}N_3O_3S$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đã hiệu chỉnh của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{15}H_{21}N_3O_3S$ của dung dịch chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng gliclazid, $C_{15}H_{21}N_3O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg gliclazid, thêm 50 ml *cloroform* (TT) và lắc trong 30 phút. Lọc qua phễu xốp thủy tinh số 4, rửa phễu nhiều lần với 25 ml *cloroform* (TT). Tập trung dịch chiết và dịch rửa cloroform, cho bay hơi đến khô trong chân không ở nhiệt độ không quá 40 °C. Hòa cân trong 50 ml *acid acetic băng* (TT), chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 32,34 mg $C_{15}H_{21}N_3O_3S$.

Bảo quản

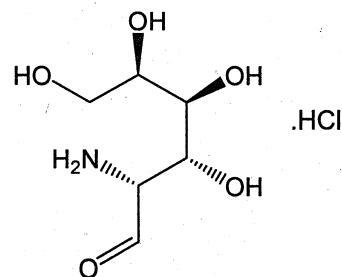
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống đái tháo đường.

Hàm lượng thường dùng

80 mg.

GLUCOSAMIN HYDROCLORID**Glucosamini hydrochloridum**

$C_6H_{13}NO_5 \cdot HCl$

P.t.l: 215,6

Glucosamin hydroclorid là 2-amino-2-deoxy-β-D-glucopyranose hydroclorid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_6H_{13}NO_5 \cdot HCl$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, rất tan trong nước.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của glucosamin hydroclorid chuẩn.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng định tính của ion clorid (Phụ lục 8.1).

C. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử ở phần định lượng phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Góc quay cực riêng

Từ +70,0° đến +73,0° tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chế phẩm trong nước có nồng độ 25 mg/ml.

pH

Từ 3,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch chế phẩm trong nước có nồng độ 20,0 mg/ml.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 105 °C; 2 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Sulfat

Không được quá 0,24 % (Phụ lục 9.4.14).

Chuẩn bị dung dịch thử bằng cách hòa tan 0,420 g chế phẩm trong nước vừa đủ 100,0 ml.

Arsen

Không được quá 3 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Cân 0,330 g chế phẩm, thêm 5 ml *acid sulfuric đậm đặc* (TT) và đun sôi cho đến khi thành than. Cho theo thành bình từng giọt *dung dịch hydrogen peroxyd 30 %* (TT) cho đến khi dung dịch trong bình trở nên không màu. Để nguội, thêm 10 ml nước và đun sôi mạnh để đuổi hết khí hydrogen peroxyd. Để nguội, thêm nước đến 25 ml và tiến hành theo phương pháp A.

Kim loại nặng

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

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

Dung môi tồn dư

Cloroform không được quá 60 phần triệu.

1,4-dioxan không được quá 380 phần triệu.

Methylen clorid không được quá 600 phần triệu.

Tricloroethylen không được quá 80 phần triệu.

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2)

Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị dung dịch trong *dimethyl sulfoxid* (TT) có chứa: Methylen clorid 12,0 mg/ml, 1,4-dioxan 7,6 mg/ml, tricloroethylen 1,6 mg/ml, cloroform 1,2 mg/ml. Lấy 2,0 ml dung dịch này vào bình định mức 100 ml, thêm 8 ml *dimethyl sulfoxid* (TT), bổ sung nước vừa đủ đến vạch, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thành 100 ml bằng nước, lắc đều. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được vào lọ đựng mẫu, đậy nắp kín. Đun nóng lọ đựng mẫu ở 90 °C trong 25 phút.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,2 g chế phẩm vào lọ đựng mẫu, thêm 10,0 ml nước, đậy nắp kín, lắc đều. Đun nóng lọ đựng mẫu ở 90 °C trong 25 phút.

Điều kiện sắc ký:

Cột OVI-G43 (30 m × 0,53 mm, 3 µm) hoặc cột tương đương (có pha tĩnh là 6 % cyanopropylphenyl - 94 % dimethylpolysiloxan).

Nhiệt độ cột: Duy trì ở 60 °C trong 1 phút, tăng lên 120 °C với tốc độ 5 °C/min, tăng lên 210 °C với tốc độ 20 °C/min và giữ trong 5 phút.

Buồng tiêm: 150 °C, không chia dòng. Detector FID: 260 °C

Khí mang: Nitơ hoặc heli dùng cho sắc ký khí, tốc độ dòng 3,9 ml/min (20 kPa).

Thiết bị lấy mẫu pha hơi:

Đặt nhiệt độ của vòng tiêm mẫu: 90 °C. Nhiệt độ của đường dẫn mẫu: 100 °C.

Thời gian cân bằng áp suất lọ đựng mẫu: 0,2 min.

Thời gian lấy mẫu: 0,2 min. Thời gian tiêm mẫu: 1 min.

Cách tiến hành:

Tiêm lặp lại 6 lần pha hơi của dung dịch đối chiếu, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích của mỗi pic dung môi của 6 lần tiêm không được lớn hơn 15 %.

Tiêm lần lượt pha hơi của dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Tính hàm lượng các dung môi dựa vào diện tích pic đáp ứng và nồng độ các dung môi trong dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat: Trộn 1,0 ml *acid phosphoric* (TT) với 2000 ml nước, điều chỉnh pH đến 3,0 bằng *dung dịch kali hydroxyd 30 %* (TT).

Pha động: *Dung dịch đệm phosphat - acetonitril* (3 : 2).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 100 mg chế phẩm hòa tan trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch glucosamin hydroclorid chuẩn trong nước có nồng độ 1,0 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).

Tốc độ dòng: 0,6 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 195 nm.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch chuẩn vào cột sắc ký, ghi lại sắc ký đồ. Hệ số đối xứng của pic glucosamin không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối diện tích pic của 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %. Điều chỉnh tốc độ dòng nếu cần thiết.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch chuẩn, ghi lại sắc ký đồ.

Tính hàm lượng của $C_6H_{13}NO_5 \cdot HCl$ dựa vào diện tích pic đáp ứng của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_6H_{13}NO_5 \cdot HCl$ trong glucosamin hydroclorid chuẩn

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kích thích sự tổng hợp mô sụn ở các khớp xương.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc nang.

GLUCOSAMIN SULFAT KALI CLORID

Glucosamini sulfas kalii chloridum

$(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4 \cdot 2KCl$

P.t.l: 605,5

Glucosamin sulfat kali clorid là phức chất bis(2-amino-2-deoxy-β-D-glucopyranose) sulfat kali clorid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4 \cdot 2KCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng. Rất tan trong nước.

Định tính

A. Cân khoảng 50 mg chế phẩm vào một ống ly tâm, thêm 2 ml nước và lắc kỹ để hòa tan. Thêm khoảng 0,5 ml dung dịch bari clorid 12 %, lắc đều và ly tâm. Bốc hơi lớp nước trong ở phía trên tới khô. Sấy cần ở 105 °C trong 2 giờ. Phổ hồng ngoại của cần thu được (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại của glucosamin hydroclorid chuẩn được chuẩn bị tương tự như chế phẩm nhưng không cho dung dịch bari clorid 12 %.

B. Trong phần định lượng thời gian lưu của pic chính thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được từ dung dịch chuẩn.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng định tính của ion clorid, kali và sulfat (Phụ lục 8.1).

pH

Dung dịch chế phẩm có nồng độ 20 mg/ml trong nước phải có pH từ 3,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +50,0° đến +52,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chế phẩm có nồng độ 35 mg/ml trong nước để thử.

Sulfat

Phải từ 15,5 % đến 16,5 %.

Cân chính xác khoảng 1 g chế phẩm vào cốc có dung tích 250 ml, thêm 100 ml nước và khuấy cho tan hoàn toàn. Thêm 4 ml dung dịch acid hydrocloric 6 N (TT). Đun đến sôi và vừa thêm vừa khuấy liên tục, một lượng thích hợp dung dịch bari clorid 12 % sôi để tạo tủa hoàn toàn với sulfat. Thêm tiếp 2 ml dung dịch bari clorid 12 % và để trên cách thủy 1 giờ. Lọc hỗn hợp qua giấy lọc không tro và rửa tủa bằng nước nóng đến khi 5 ml nước rửa không cho tủa với 1 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 N (TT). Chuyển giấy lọc chứa tủa vào chén nung đã có bi. Than hóa giấy lọc, không được tạo ngọn lửa, và nung đến khối lượng không đổi. Tính lượng sulfat bằng cách nhân khối lượng tủa thu được với 0,4116.

Arsen

Không được quá 3 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Tiến hành thử theo mục Arsen của chuyên luận Glucosamin hydroclorid.

Kim loại nặng

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

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

Natri

Dùng dây platin lấy dung dịch chế phẩm 10 % trong nước và đưa vào ngọn lửa không màu. Ngọn lửa không được nhuộm thành màu vàng.

Dung môi tồn dư

Yêu cầu và tiến hành thử theo mục Dung môi tồn dư của chuyên luận Glucosamin hydroclorid.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 105 °C; 2 h).

Tro sulfat

Từ 27,0 % đến 29,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat, pha động, dung dịch chuẩn và hệ thống sắc ký giống như phần định lượng ở chuyên luận Glucosamin hydroclorid.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 125 mg chế phẩm vào bình định mức 100 ml, thêm 30 ml nước, lắc cơ học cho tan hoàn toàn và thêm nước đến vạch.

Tính hàm lượng $(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4 \cdot 2KCl$ bằng cách nhân hàm lượng glucosamin hydroclorid tìm thấy với 605,52/431,26, trong đó 605,52 là phân tử lượng của $(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4 \cdot 2KCl$ và 431,26 là 2 lần phân tử lượng của glucosamin hydroclorid.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

GLUCOSAMIN SULFAT NATRI CLORID***Glucosamini sulfas natrii chloridum*** $(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4 \cdot 2NaCl$

P.t.l: 573,3

Glucosamin sulfat natri clorid là phức chất bis(2-amino-2-deoxy- β -D-glucopyranose) sulfat natri clorid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4 \cdot 2NaCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng. Rất tan trong nước.

Định tính

A. Cân khoảng 50 mg chế phẩm vào một ống ly tâm, thêm 2 ml nước và lắc kỹ để hòa tan. Thêm khoảng 0,5 ml dung dịch bari clorid 12 %, lắc đều và ly tâm. Bốc hơi lớp nước trong ở phía trên tới khô. Sấy cạn ở 105 °C trong 2 giờ. Phổ hồng ngoại của cặn thu được (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại của glucosamin hydroclorid chuẩn được chuẩn bị tương tự như chế phẩm nhưng không cho dung dịch bari clorid 12 %.

B. Trong phần định lượng thời gian lưu của pic chính thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được từ dung dịch chuẩn.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng định tính của ion clorid, natri và sulfat (Phụ lục 8.1).

pH

Dung dịch chế phẩm có nồng độ 20 mg/ml trong nước phải có pH từ 3,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +52,0° đến +54,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chế phẩm có nồng độ 35 mg/ml trong nước để thử.

Sulfat

Phải từ 16,3 % đến 17,3 %.

Cân chính xác khoảng 1 g chế phẩm vào cốc có dung tích 250 ml, thêm 100 ml nước và khuấy cho tan hoàn toàn. Thêm 4 ml dung dịch acid hydrocloric 6 N (TT). Đun đến sôi và vừa thêm vừa khuấy liên tục, một lượng thích hợp dung dịch bari clorid 12 % sôi để tạo tủa hoàn toàn với sulfat. Thêm tiếp 2 ml dung dịch bari clorid 12 % và để trên cách thủy 1 giờ. Lọc hỗn hợp qua giấy lọc không tro và rửa tủa bằng nước nóng đến khi 5 ml nước rửa không cho tủa với 1 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 N (TT). Chuyển giấy lọc chứa tủa vào chén nung đã có bi. Than hóa giấy lọc, không được tạo ngọn lửa, và nung đến khối lượng không đổi. Tính lượng sulfat bằng cách nhân khối lượng tủa thu được với 0,4116.

Arsen

Không được quá 3 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Tiến hành thử theo mục Arsen của chuyên luận glucosamin hydroclorid.

Kim loại nặng

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

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

Kali

Acid hóa 5 ml dung dịch chế phẩm 5 % trong nước bằng dung dịch acid acetic 6 N (TT) và thêm 5 giọt dung dịch natri cobalt nitrit 20 % (TT), không được có tủa tạo thành.

Dung môi tồn dư

Yêu cầu và tiến hành thử theo mục Dung môi tồn dư của chuyên luận Glucosamin hydroclorid.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 105 °C; 2 h).

Tro sulfat

Từ 23,5 % đến 25,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat, pha động, dung dịch chuẩn và hệ thống sắc ký giống như phần Định lượng ở chuyên luận Glucosamin hydroclorid.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 100 mg chế phẩm vào bình định mức 100 ml, thêm 30 ml nước, lắc cơ học cho tan hoàn toàn và thêm nước đến vạch.

Tính hàm lượng $(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4 \cdot 2NaCl$ bằng cách nhân hàm lượng glucosamin hydroclorid tìm thấy với 573,31/431,26, trong đó 573,31 là phân tử lượng của $(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4 \cdot 2NaCl$ và 431,26 là 2 lần phân tử lượng của glucosamin hydroclorid.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

VIÊN NÉN GLUCOSAMIN***Tabellae Glucosamini***

Là viên nén chứa glucosamin hydroclorid hoặc glucosamin sulfat natri clorid hoặc glucosamin sulfat kali clorid hoặc hỗn hợp của các muối glucosamin trên.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng glucosamin, $C_6H_{13}NO_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng, cạnh và thành viên lạnh lặn.

Định tính

A. Trong mục Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có pic chính có cùng thời gian lưu với pic chính của glucosamin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 60 mg glucosamin với 10ml nước, lọc. 2 ml dịch lọc phải cho phản ứng định tính của ion clorid (Phản ứng A, Phụ lục 8.1)

C. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 50 mg glucosamin với 10 ml nước, lọc. 5 ml dịch lọc phải cho phản ứng định tính của ion sulfat (Phụ lục 8.1) (chỉ thực hiện cho viên mà nhãn ghi có chứa glucosamin sulfat natri clorid hoặc glucosamin sulfat kali clorid).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy

Môi trường: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Xác định lượng chất hòa tan bằng Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat, pha động, điều kiện sắc ký và hiệu chỉnh hệ thống sắc ký thực hiện như mục Định lượng trong chuyên luận Glucosamin hydroclorid.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch glucosamin hydroclorid chuẩn trong nước có nồng độ khoảng 1,0 mg/ml. Pha loãng tới một thể tích thích hợp với nước (nếu cần).

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan chế phẩm, lọc (bỏ dịch lọc đầu).

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính lượng glucosamin (mg) đã hòa tan từ mỗi viên dựa vào công thức sau:

$$(179,17/215,63) \times (900 \times C) \times (A_t/A_c)$$

Trong đó:

179,17 và 215,63 lần lượt là phân tử lượng của glucosamin và glucosamin hydroclorid;

C là hàm lượng mg/ml của glucosamin hydroclorid chuẩn trong dung dịch chuẩn;

A_t và A_c lần lượt là diện tích pic đáp ứng trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Yêu cầu: Không dưới 75 % lượng glucosamin, $C_6H_{13}NO_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat, pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký, cách tiến hành thực hiện như mục Định lượng trong chuyên luận Glucosamin hydroclorid.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 80 mg glucosamin chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml nước và

để siêu âm 10 phút. Sau đó lắc cơ học trong 15 phút, thêm nước đến định mức. Trộn đều và lọc.

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

Tính hàm lượng của glucosamin, $C_6H_{13}NO_5$, trong viên dựa theo diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_6H_{13}NO_5$ trong glucosamin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

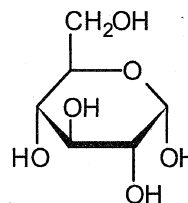
Trong lọ nút kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Dùng cho bệnh nhân thoái hóa khớp.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg.

GLUCOSE KHAN***Glucosum anhydricum*****Dextrose**

$C_6H_{12}O_6$

P.t.l: 180,2

Glucose khan là D-(+)-glucopyranose.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, không mùi, vị ngọt.

Đễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 5 ml nước, thêm 2 ml thuốc thử Fehling (TT), đun đến sôi sẽ hình thành tủa đỏ nâu.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Nước - methanol - acid acetic khan - ethylen clorid (10 : 15 : 25 : 50). Các dung môi nên lấy chính xác vì một lượng nhỏ nước thừa sẽ làm đục.

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp nước - methanol (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg glucose chuẩn trong hỗn hợp nước - methanol (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg fructose chuẩn, 10 mg glucose chuẩn, 10mg sucrose chuẩn và 10 mg lactose chuẩn trong hỗn hợp nước - methanol (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng dưới luồng không khí nóng. Sau khi bản mỏng khô, lập tức khai triển sắc ký với pha động đã được thay mới một lần nữa. Sau khi sấy khô dưới luồng không khí nóng, phun đều dung dịch chứa 0,5 g *thymol* (TT) trong 5 ml hỗn hợp *acid sulfuric* - *ethanol* 96 % (5 : 95). Sấy bản mỏng ở 130 °C trong 10 phút.

Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 4 vết tách rõ ràng.

C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử góc quay cực riêng.

Góc quay cực riêng

Từ +52,5° đến +53,3°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong 80 ml *nước*, thêm 0,2 ml *dung dịch amoniac* 10 % (TT), để yên 30 phút và pha loãng thành 100 ml bằng *nước* để đo.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch chứa 10,0 g chế phẩm trong 15 ml *nước* phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VN₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 6,0 g chế phẩm trong 25 ml *nước không có carbon dioxyl* (TT) và thêm 0,3 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT). Dung dịch phải không màu. Màu của dung dịch phải chuyển sang hồng khi thêm không quá 0,15 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CĐ).

Clorid

Không được quá 0,0125 % (Phụ lục 9.4.5).

Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.

Lấy 4 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 7,5 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml với *nước* và tiến hành thử.

Arsen

Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Dùng 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp A.

Kim loại nặng

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 4,0 g chế phẩm trong 20 ml *nước*. Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Đường ít tan và dextrin

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 30 ml *ethanol* 90 % (TT) bằng cách đun sôi. Để nguội, dung dịch thu được không được đục hơn 30 ml *ethanol* 90 % (TT).

Tinh bột tan

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 25 ml *nước*, đun sôi 1 phút, để nguội rồi thêm 0,1 ml *dung dịch iod* 0,1 N (CĐ), màu xanh không được xuất hiện.

Sulfit

Không được quá 15 phần triệu SO₂.

Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 40 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 76 mg *natri metabisulfit* (TT) trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml cũng bằng *nước*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch vừa pha thành 100,0 ml bằng *nước*. Thêm vào 3,0 ml dung dịch này 4,0 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.

Thêm vào 10,0 ml mỗi dung dịch trên 1 ml *dung dịch* chứa 310 g/l *acid hydrocloric* (TT), 2 ml *dung dịch Fuchsin đã khử màu* (TT), 2,0 ml *dung dịch formaldehyd* 0,5 % (tt/tt). Để yên 30 phút và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 583 nm. Mẫu trắng được chuẩn bị tương tự nhưng thay bằng 10,0 ml *nước*.

Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn của dung dịch chuẩn.

Tro sulfat

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

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 5 ml *nước* và thêm 2 ml *acid sulfuric* (TT), bốc hơi đến khô trên cách thủy và nung đến khối lượng không đổi. Nếu cần thiết, đun nóng lại với *acid sulfuric* (TT).

Nước

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm để thử.

Bari

Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric* 1 M (TT) vào 10 ml dung dịch S. Kiểm tra ngay và sau 1 giờ, dung dịch không được đục hơn dung dịch đối chiếu gồm 10 ml dung dịch S và 1 ml *nước*.

Calci

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.3).

Lấy 5,0 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml với *nước* và tiến hành thử.

Chất gây sốt

Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm dưới dạng đóng gói thể tích lớn thì phải đáp ứng yêu cầu về chất gây sốt (Phụ lục 13.4). Tiêm 10 ml dung dịch có chứa 50 mg chế phẩm trong 1 ml *nước* để pha thuốc tiêm cho 1 kg thỏ.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín.

Chế phẩm

Glucose tiêm truyền tĩnh mạch: Kali clorid, natri clorid và glucose tiêm truyền tĩnh mạch; natri clorid và glucose tiêm truyền tĩnh mạch. Dung dịch uống phối hợp với các muối để bù mất nước; Kali clorid và glucose tiêm truyền tĩnh mạch.

GLUCOSE NGÂM MỘT PHÂN TỬ NƯỚC

Glucosum monohydricum

Dextrose ngâm một phân tử nước

$C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$

P.t.l: 198,2

Glucose ngâm một phân tử nước là D-(+)-glucopyranose ngâm một phân tử nước.

Tính chất

Chế phẩm có tính chất đã được mô tả trong chuyên luận "Glucose khan".

Định tính

Chế phẩm có các phản ứng định tính của chuyên luận "Glucose khan".

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu của chuyên luận "Glucose khan" trừ phép thử Nước và Chất gây sốt.

Nước

Từ 7,0 % đến 9,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Chất gây sốt

Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm dưới dạng đóng gói thể tích lớn thì phải đáp ứng yêu cầu về chất gây sốt (Phụ lục 13.4). Tiêm 10 ml dung dịch có chứa 55 mg chế phẩm trong 1 ml nước để pha thuốc tiêm (TT) cho 1 kg thể.

Bảo quản

Xem chuyên luận "Glucose khan".

Chế phẩm

Xem chuyên luận "Glucose khan".

THUỐC TIÊM GLUCOSE***Injectio Glucosi***

Là dung dịch vô khuẩn của glucose khan hoặc glucose ngâm một phân tử nước trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm không được pha thêm chất bảo quản, sau khi pha chế phải tiệt khuẩn ngay.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng glucose, $C_6H_{12}O_6$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu hoặc màu hơi vàng nhưng không đậm hơn màu vàng nhạt.

Định tính

A. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 5 ml thuốc thử Fehling (TT). Đun sôi sẽ xuất hiện tủa đồng (I) oxyd có màu đỏ gạch.

B. Dung dịch thu được trong phần định lượng có độ quay cực hữu tuyến.

5-Hydroxymethylfurfural và các chất liên quan

Pha loãng một thể tích chế phẩm tương ứng với 1,0 g glucose với nước thành 250 ml. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 284 nm không được lớn hơn 0,25.

pH

3,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Sử dụng dung dịch được chuẩn bị bằng cách pha loãng chế phẩm với nước (nếu cần) để được dung dịch có nồng độ glucose 5 % và thêm vào 100 ml dung dịch này 0,3 ml dung dịch kali clorid bão hòa (TT).

Định lượng

Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với 2 đến 5 g glucose khan, thêm 0,2 ml dung dịch amoniac 5 M (TT) và thêm nước vừa đủ 100 ml. Trộn đều, để yên 30 phút rồi xác định góc quay cực trong ống dài 2 dm (Phụ lục 6.4).

Giá trị góc quay cực đo được nhân với 0,9477 là khối lượng tính ra gam của glucose, $C_6H_{12}O_6$, có trong thể tích chế phẩm lấy ra định lượng.

Bảo quản

Chế phẩm thường được đóng trong ống thủy tinh 5 ml hàn kín. Để ở nơi không quá 25 °C. Tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng

1,5 g/5 ml (tính theo glucose khan).

THUỐC TIÊM TRUYỀN GLUCOSE***Infusio Glucosi***

Là dung dịch vô khuẩn của glucose khan hoặc glucose ngâm một phân tử nước trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm không được pha thêm chất bảo quản, sau khi pha chế phải tiệt khuẩn ngay.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" mục "Thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Chế phẩm phải đạt các yêu cầu chất lượng qui định tại chuyên luận "Thuốc tiêm glucose" và các yêu cầu sau đây:

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)

Pha loãng dung dịch tiêm nếu cần thiết với nước BET để có nồng độ tương đương 50,0 mg glucose trong 1 ml (dung dịch A). Giới hạn nồng độ nội độc tố của

dung dịch A là 0,25 đơn vị trong 1 ml. Tiến hành thử nghiệm sử dụng giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Giới hạn tiêu phân

Khi chế phẩm được đóng ở thể tích 100 ml trở lên, tiến hành xác định giới hạn tiêu phân (Phụ lục 11.8). Chế phẩm phải đạt yêu cầu của phép thử A. Xác định giới hạn tiêu phân không nhìn thấy bằng mắt thường.

Bảo quản

Chế phẩm được đóng trong chai nút kín, để ở nơi không quá 25 °C.

Nồng độ thường dùng

5 %, 10 %, 20 %, 30 %.

GLYCERIN

Glycerinum

Glycerol



P.t.l: 92,1

Glycerin là propan 1,2,3-triol, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Chất lỏng sánh, trong suốt, không màu, không mùi, vị nóng và ngọt, hút ẩm mạnh.

Trộn lẫn được với nước và ethanol 96 %, khó tan trong acetone, thực tế không tan trong benzen, cloroform, dầu béo, ether, ether dầu hỏa, tinh dầu.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Lấy 5 ml chế phẩm, thêm vào 1 ml nước, trộn cẩn thận. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của dung dịch trên phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của glycerin 85 %.

B. Trộn 1 ml chế phẩm với 0,5 ml acid nitric (TT) và thêm 0,5 ml dung dịch kali dicromat 10 %, một vòng xanh lam xuất hiện ở bề mặt phân cách giữa hai lớp. Để yên 10 phút, vòng xanh không phân tán vào lớp bên dưới.

C. Đun nóng 1 ml chế phẩm với 2 g kali hydrosulfat (TT) trong một đĩa để làm bay hơi, hơi này có mùi hắc, làm chảy nước mắt và làm đen giấy tẩm dung dịch kali iodomercurat kiềm (TT).

D. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử chỉ số khúc xạ.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Pha loãng 100,0 g chế phẩm thành 200 ml bằng nước không có carbon dioxyd (TT).

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2).

Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 25 ml bằng nước, dung dịch thu được phải không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 50 ml dung dịch S, thêm 0,5 ml dung dịch phenolphthalein (TT), dung dịch không màu. Thêm dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) cho đến khi có màu hồng. Lượng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) dùng không được quá 0,2 ml. Giữ lại dung dịch sau cùng này cho phép thử ester.

Chỉ số khúc xạ

1,470 đến 1,475 (Phụ lục 6.1).

Clorid

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 1,0 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử. Dùng 1 ml dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu (TT) pha loãng thành 15 ml bằng nước để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Kim loại nặng

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Pha loãng 6 ml dung dịch S thành 15 ml bằng nước. Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Aldehyd

Không được quá 10 phần triệu.

Lấy 7,5 ml dung dịch S cho vào bình nút mài, thêm 7,5 ml nước và 1,0 ml dung dịch pararosanilin đã khử màu (TT). Đậy nắp và để yên trong một giờ ở nhiệt độ $(25 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này đo ở bước sóng 552 nm không được lớn hơn độ hấp thụ của mẫu đối chiếu được tiến hành trong cùng điều kiện và cùng thời gian bằng cách dùng 7,5 ml dung dịch formaldehyd chuẩn (có chứa 5 phần triệu CH_2O) thay cho dung dịch S. Kết quả chỉ có giá trị khi mẫu đối chiếu có màu hồng.

Ester

Thêm 10,0 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ) vào dung dịch sau cùng của phép thử giới hạn acid - kiềm. Đun sôi hồi lưu trong 5 phút. Làm lạnh. Thêm 0,5 ml dung dịch phenolphthalein (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ). Lượng dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ) đã dùng không dưới 8,0 ml.

Đường

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 1 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT), đun nóng trên cách thủy 5 phút.

Thêm vào 3 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (không có carbonat) (TT)*. Trộn đều và thêm từng giọt 1 ml *dung dịch đồng (II) sulfat 12,5 % (TT)* mới pha. Dung dịch phải có màu xanh lam và trong. Tiếp tục đun trên cách thủy trong 5 phút. Màu của dung dịch vẫn phải xanh và không được có tủa tạo thành.

Diethylen glycol và tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2)

Dung dịch thử: Pha loãng 10,0 ml dung dịch S thành 100,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 1,000 g *diethylen glycol (TT)* trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng dung dịch thử. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml bằng dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu (3): Trộn 1,0 ml dung dịch thử và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột: 30 m × 0,53 mm, pha tĩnh là polycyanopropylphenyl siloxan 6 % và polydimethylsiloxan 94 %.

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký khí với lưu lượng 38 cm/s.

Tỷ lệ chia dòng: 10/1.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0	100
	0 - 16	100 → 220
	16 - 20	220
Buồng tiêm mẫu		220
Detector		250

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 0,5 µl

Thứ tự rửa giải: Diethylen glycol, glycerol

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (3):

Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa diethylen glycol và glycerol ít nhất là 7,0.

Diện tích pic của diethylen glycol không được lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic tương ứng trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Diện tích của các pic phụ có thời gian lưu nhỏ hơn thời gian lưu của glycerol không lớn hơn 0,5 lần diện

tích pic tương ứng với diethylen glycol trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Tổng diện tích của các pic có thời gian lưu lớn hơn thời gian lưu của glycerol không lớn hơn 2,5 lần diện tích pic tương ứng với diethylen glycol trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic tương ứng với diethylen glycol trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,05 %).

Các hợp chất halogen

Không được quá 35 phần triệu.

Lấy 10 ml dung dịch S cho vào cốc thủy tinh 50 ml, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, 5 ml nước và 50 mg *hợp kim nhôm - nickel không có halogen (TT)*. Đun trên cách thủy trong 10 phút, làm lạnh và lọc. Rửa cốc và phễu lọc với nước cho đến khi thu được 25 ml dịch lọc.

Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 4 ml *ethanol 96 % (TT)*, 2,5 ml nước, 0,5 ml *acid nitric (TT)* và 0,05 ml *dung dịch bạc nitrat 1,7 %*, khuấy đều. Để yên trong 2 phút. Dung dịch không được đục hơn dung dịch đối chiếu được chuẩn bị trong cùng điều kiện và cùng thời gian.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 7,0 ml *dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu (TT)*, thêm 4 ml *ethanol 96 % (TT)*, 0,5 ml nước, 0,5 ml *acid nitric (TT)* và 0,05 ml *dung dịch bạc nitrat 1,7 %*.

Nước

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,000 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 5,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 45 ml nước. Thêm chính xác 25,0 ml *dung dịch natri periodat 2,14 % (TT)*. Để yên ở chỗ tối 15 phút, thêm 5,0 ml *dung dịch ethan-1,2-diol 50 % trong nước (TT)*. Để yên ở chỗ tối 20 phút và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD)*, dùng 0,5 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị. Song song tiến hành làm mẫu trắng. 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD)* tương đương với 9,21 mg $C_3H_8O_3$.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Nhuận tràng, hút ẩm, dung môi hòa tan, tá dược.

Chế phẩm

Dung dịch thật trực tràng, viên đặt hậu môn.

GLYCEROL MONOSTEARAT 40 - 55***Glyceroli monostearas 40 - 55***

Glycerol monostearat 40 - 55 là hỗn hợp các monoacylglycerol, chủ yếu là monostearoylglycerol, cùng với di và triacylglycerol với hàm lượng khác nhau. Chế phẩm phải chứa từ 40,0 % đến 55,0 % monoacylglycerol, 30,0 % đến 45,0 % diacylglycerol và 5 % đến 15 % triacylglycerol, thu được bằng cách phân giải glycerol từng phần dầu thực vật chứa chủ yếu triacylglycerol của acid palmitic hoặc acid stearic, hay bằng cách ester hóa glycerol với acid stearic 50 (loại I), acid stearic 70 (loại II) hoặc acid stearic 95 (loại III). Các acid béo có thể có nguồn gốc từ động vật hoặc thực vật.

Tính chất

Khối sáp cứng hoặc bột, vảy nhờn, màu trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol 96 % ở 60 °C.

Định tính

A. Nhiệt độ nóng chảy 54 °C đến 64 °C (Phụ lục 6.7). Cho chế phẩm vào ống mao quản và đặt trong bình kín trong vòng 24 giờ.

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

Bản mỏng: Silica gel.

Dung môi khai triển: Hexan - ether (30 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong methylen clorid (TT) bằng cách đun nhẹ và pha loãng đến 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 1,0 g glycerol monostearat 40 - 55 chuẩn trong methylen clorid (TT) bằng cách đun nhẹ và pha loãng đến 20 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Phun dung dịch rhodamin B 0,01 % trong ethanol 96 %, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm. Các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí giống với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Đáp ứng phép thử thành phần acid béo tùy theo loại acid béo được qui định trên nhãn.

D. Đáp ứng các giới hạn định lượng (hàm lượng monoacylglycerol).

Chỉ số acid

Không được quá 3,0 (Phụ lục 7.2).

Dùng 1,0 g chế phẩm pha trong hỗn hợp đồng thể tích ethanol 96 % (TT) và toluen (TT), đun nóng nhẹ.

Chỉ số iod

Không được quá 3,0 (Phụ lục 7.5).

Chỉ số xà phòng hóa

158 đến 177 (Phụ lục 7.7).

Dùng 2,0 g chế phẩm. Đun nóng khi tiến hành định lượng.

Glycerol tự do

Không được quá 6,0 %, tiến hành như phần định lượng.

Thành phần acid béo

Tiến hành phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 5 ml dung dịch natri hydroxyd 2,0 % trong methanol trong bình nón 25 ml và đun sôi dưới ống sinh hàn ngược trong 30 phút. Thêm 5,0 ml dung dịch boron trifluorid-methanol (TT) qua ống sinh hàn và đun sôi 30 phút. Thêm 4 ml heptan (TT) qua ống sinh hàn và đun sôi 5 phút. Để nguội và thêm 10,0 ml dung dịch natri clorid bão hòa (TT), lắc khoảng 15 giây và thêm một lượng dung dịch natri clorid bão hòa (TT) để lớp phía trên nằm trên cổ của bình. Lấy 2 ml lớp phía trên, rửa bằng 2 ml nước, làm khô bằng natri sulfat khan (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Chuẩn bị 0,50 g hỗn hợp các chất: methyl laurat, methyl myristat, methyl palmitat, methyl stearat, methyl arachidat, methyl oleat (mỗi chất khoảng < 100 mg), sau đó hòa tan trong heptan (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng heptan (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Chuẩn bị 0,50 g hỗn hợp các chất methyl palmitat và methyl stearat. Hòa tan trong heptan (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột: Làm bằng silica nung chảy, thủy tinh hoặc thạch anh, kích thước dài từ 10 m đến 30 m, đường kính 0,2 mm đến 0,8 mm.

Pha tĩnh: Poly[(cyanopropyl)(methyl)][(phenyl)(methyl)-siloxan hoặc macrogol 20 000 (phim dày 0,1 µm đến 0,5 µm) hoặc một vài pha tĩnh thích hợp khác.

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký hoặc nitrogen dùng cho sắc ký.

Tốc độ dòng: 1,3 ml/min (với đường kính cột 0,32 mm).

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 100 hoặc nhỏ hơn, phụ thuộc vào đường kính trong của cột sử dụng (1 : 50 nếu đường kính cột là 0,32 mm).

Nhiệt độ:

Cột: 160 °C đến 200 °C, phụ thuộc vào chiều dài cột sử dụng (200 °C với cột dài 30 m và được bao lớp macrogol 20 000); nếu cần, tăng nhiệt độ cột từ 170 °C đến 230 °C với tốc độ 3 °C/min (với cột macrogol 20 000).

Buồng tiêm: 250 °C.

Detector: 250 °C

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 µl

Độ thích hợp của hệ thống:

Độ phân giải giữa pic của methyl oleat và methyl stearat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) ít nhất là 1,8.

Tỷ lệ giữa tín hiệu và nhiễu của pic methyl myristat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) ít nhất là 5.

Số đĩa lý thuyết: Ít nhất là 30 000, tính trên pic của methyl stearat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Đánh giá kết quả

Định tính: Định tính các pic dựa trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Định lượng: Phương pháp chuẩn hóa coi tổng diện tích của tất cả các pic (trừ các pic của dung môi) là 100 %. Hàm lượng của mỗi thành phần được xác định bằng cách so sánh diện tích của pic đó với tổng diện tích của tất cả các pic. Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 % tổng diện tích.

Thành phần acid béo của chế phẩm phải đạt yêu cầu theo bảng sau:

	Acid béo dùng để ester hóa	Thành phần acid béo
Glycerol monostearat 40 - 55 (loại I)	Acid stearic 50	Acid stearic: 40,0 % đến 60,0 % Tổng lượng acid palmitic và acid stearic: không thấp hơn 90,0 %.
Glycerol monostearat 40 - 55 (loại II)	Acid stearic 70	Acid stearic: 60,0 % đến 80,0 % Tổng lượng acid palmitic và acid stearic: không thấp hơn 90,0 %.
Glycerol monostearat 40 - 55 (loại III)	Acid stearic 95	Acid stearic: 90,0 % đến 99,0 % Tổng lượng acid palmitic và acid stearic: không thấp hơn 96,0 %.

Nickel

Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.11).

Nước

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.3)

Dùng 1,0 g chế phẩm và *pyridin* (TT) làm dung môi, đun nóng nhẹ.

Tro toàn phần

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.8).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Xác định hàm lượng glycerol tự do và hàm lượng di và triacylglycerol bằng phương pháp sắc ký rây phân tử (Phụ lục 5.5).

Điều kiện sắc ký:

Cột: Cột thẩm thấu gel dài 0,6 m, đường kính trong 7 mm được nhồi *styren - divinylbenzen copolymer* (TT) (đường kính tiểu phân 5 µm, kích thước lỗ xốp 10 nm).

Pha động: *tetrahydrofuran* (TT).

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Detector: Khúc xạ kế vi sai.

Thể tích tiêm : 40 µl.

Dung dịch thử:

Cân 0,2 g (chính xác đến 0,1 mg) chế phẩm (m) cho vào bình 15 ml. Thêm 5 ml *tetrahydrofuran* (TT), lắc mạnh để hòa tan. Cân lại bình, tính tổng khối lượng dung môi và chế phẩm (M).

Dung dịch đối chiếu

Cân lần lượt (2,5 ± 0,1) mg, (5 ± 0,1) mg, (10 ± 0,1) mg, (20 ± 0,1) mg *glycerol* (TT) cho vào 4 bình 15 ml. Thêm vào mỗi bình 5 ml *tetrahydrofuran* (TT), lắc mạnh để hòa tan. Cân lại các bình và tính nồng độ glycerol (mg/g) cho mỗi dung dịch đối chiếu.

Cách tiến hành

Tiêm mỗi dung dịch. Trong điều kiện mô tả trên, sắc ký đồ thu được có thời gian lưu tương đối so với thời gian lưu của glycerol là khoảng 0,86 đối với monoacylglycerol, khoảng 0,81 đối với diacylglycerol và 0,77 đối với triacylglycerol. Từ đường cong chuẩn thu được của các dung dịch đối chiếu, xác định nồng độ C (mg/g) của glycerol trong dung dịch thử.

Hàm lượng % glycerol tự do trong chế phẩm được tính bằng công thức:

$$\frac{C \times M}{m \times 10}$$

Hàm lượng (%) của mono, di và triacylglycerol được xác định bằng phương pháp chuẩn hóa.

Nhãn

Phải qui định loại glycerol monostearat 40 - 55.

Bảo quản

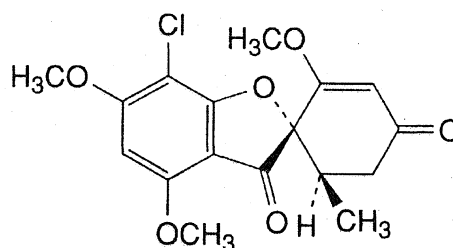
Bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Tá dược.

GRISEOFULVIN

Griseofulvinum



$C_{17}H_{17}ClO_6$

P.t.l: 352,8

Griseofulvin là (1'S,3-6'R)-7-cloro-2',4,6-trimethoxy-6'-methylspiro[benzofuran-2(3H),1'-[2]cyclohexen]-3,4'-dion, thu được từ việc nuôi cấy chủng *Penicillium griseofulvum* hoặc bằng các phương pháp khác; phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{17}H_{17}ClO_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột mịn màu trắng hoặc trắng ánh vàng, kích thước hạt thường nhỏ hơn 5 μm mặc dù vẫn có thể có các hạt kích thước lớn hơn 30 μm , không vị. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong dimethylformamid và trong tetrachloroethan, khó tan trong ethanol và methanol.

Nhiệt độ nóng chảy khoảng 220 °C.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của griseofulvin chuẩn.

B. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 1 ml *acid sulfuric* (TT), thêm khoảng 5 mg bột *kali dicromat* (TT). Màu đỏ rượu tạo thành.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,75 g chế phẩm trong *dimethylformamid* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V₄ (Phụ lục 9.3; phương pháp 2).

Giới hạn acid

Lắc 0,25 g chế phẩm với 20 ml *ethanol* 96 % (TT) để tạo thành hỗn dịch. Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT). Không được dùng quá 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,02 M (CĐ) để làm chuyển màu của chỉ thị.

Góc quay cực riêng

Phải từ +354° đến +364° tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dimethylformamid* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2)

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 0,2 g *diphenylanthracen* (TT) trong *acetone* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *acetone* (TT) và pha loãng đến vừa đủ 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *acetone* (TT), thêm 1,0 ml *dung dịch chuẩn nội* và pha loãng thành 10,0 ml với *acetone* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5,0 mg griseofulvin chuẩn trong *acetone* (TT), thêm 1,0 ml *dung dịch chuẩn nội* và pha loãng thành 10,0 ml với *acetone* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (1 m × 4 mm) được nhồi pha tĩnh là *diatomit dùng cho sắc ký khí* đã được tẩm 1 % (kl/kl) *poly[(cyanopropyl)(methyl)][(phenyl)(methyl)]siloxan*. Khí mang là nitrogen dùng cho sắc ký với tốc độ dòng 50 ml/min đến 60 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ cột 250 °C, nhiệt độ buồng tiêm 270 °C và nhiệt độ detector 300 °C.

Tiến hành sắc ký với khoảng thời gian gấp ba lần thời gian xuất hiện pic tương ứng với griseofulvin (khoảng 11 phút).

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu, tính tỷ số giữa diện tích pic của griseofulvin và diện tích pic của chuẩn nội (R_s). Tiêm dung dịch thử (2), tính tỷ số giữa diện tích pic của dechlorogriseofulvin (thời gian lưu tương đối so với griseofulvin khoảng 0,6) và diện tích pic của chuẩn nội (R_1). Tính tỷ số như trên đối với dehydrogriseofulvin (pic có thời gian lưu tương đối so với griseofulvin khoảng 1,4) được R_2 .

Giá trị R_1/R_s phải nhỏ hơn 0,6 và giá trị R_2/R_s phải nhỏ hơn 0,15.

Tạp chất tan trong ether dầu hỏa

Không được quá 0,2 %.

Lắc 1,0 g chế phẩm với 20 ml *ether dầu hỏa* (TT). Đun sôi hồi lưu trong 10 phút. Làm nguội, lọc, rửa phễu lọc ba lần, mỗi lần với 15 ml *ether dầu hỏa* (TT). Gộp dịch lọc và các dịch rửa, bay hơi trên cách thủy tới khô. Sấy cạn ở 100 °C đến 105 °C trong 1 giờ. Khối lượng của cặn không được lớn hơn 2 mg.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6) (1,0 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Độc tính bất thường

Dùng 5 chuột nhắt khỏe mạnh có khối lượng từ 17 g đến 22 g, cho mỗi chuột uống hỗn dịch có chứa 0,1 g chế phẩm trong 0,5 ml đến 1,0 ml *nước*. Không được có chuột nào chết trong vòng 48 giờ (Phụ lục 13.5).

Định lượng

Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong *ethanol* (TT) và pha loãng thành 200,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml *dung dịch thu được* thành 100,0 ml với *ethanol* (TT). Đo độ hấp thụ tại cực đại 291 nm (Phụ lục 4.1). Tính hàm lượng $C_{17}H_{17}ClO_6$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 686 là giá trị A (1 %, 1 cm) tại bước sóng 291 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Kháng nấm.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN GRISEOFULVIN***Tabellae Griseofulvini***

Là viên nén chứa griseofulvin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng griseofulvin, $C_{17}H_{17}ClO_6$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng hoặc hơi ngà vàng.

Định tính

A. Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với 125 mg griseofulvin với 20 ml *cloroform* (TT), thêm 1 g *natri sulfat khan* (TT), lắc đều và lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô và sấy ở áp suất giảm không quá 0,7 kPa trong 1 giờ. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của sản phẩm thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của griseofulvin.

B. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 80 mg griseofulvin với 150 ml *ethanol* 96 % (TT) trong 20 phút. Pha loãng với *ethanol* 96 % (TT) đến vừa đủ 200 ml và lọc. Pha loãng tiếp 2 ml dịch lọc thành 100 ml với *ethanol* 96 % (TT). Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ 240 nm đến 400 nm phải có hai cực đại hấp thụ ở 291 nm, 325 nm và một vai ở 250 nm.

C. Hòa tan 5 mg bột viên trong 1 ml *acid sulfuric đậm đặc* (TT) và thêm 5 mg *kali dicromat* (TT) đã được nghiền mịn, xuất hiện màu đỏ.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 1000 ml dung dịch *natri lauryl sulfat* 1,5 %.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan chế phẩm, lọc (bỏ dịch lọc đầu). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được ở bước sóng cực đại 291 nm, pha loãng dịch lọc (nếu cần) bằng *methanol* 80 %. Tính lượng griseofulvin, $C_{17}H_{17}ClO_6$, được hòa tan từ viên theo A (1 %, 1cm). Lấy 725 là giá trị A (1 %, 1cm) ở cực đại 291 nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng griseofulvin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Tạp chất liên quan

Tiến hành phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Hòa tan 50 mg 9,10-diphenylanthracen (chuẩn nội) trong *cloroform* (TT) vừa đủ 50 ml (Dung dịch A).

Dung dịch (1): Hòa tan 5 mg griseofulvin đối chiếu trong *cloroform* (TT), thêm 2 ml dung dịch A và *cloroform* (TT) vừa đủ 200 ml. Bốc hơi 20 ml dung dịch này còn khoảng 1 ml.

Dung dịch (2): Thêm 60 ml *cloroform* (TT) vào một lượng bột viên tương ứng với 50 mg griseofulvin, vừa đun vừa lắc ở 60 °C trong 20 phút, làm nguội và pha loãng thành 100 ml bằng *cloroform* (TT). Ly tâm và bốc hơi 20 ml lớp chất lỏng trong ở trên còn khoảng 1 ml.

Dung dịch (3): Chuẩn bị như dung dịch (2) nhưng thêm 1 ml dung dịch A trước khi pha loãng thành 100 ml bằng *cloroform* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (1 m × 4 mm) được nhồi chất mang *diatomit* đã được rửa bằng acid và silan hóa tẩm 1 % (kl/kl) pha tĩnh *cyanopropylmethyl phenyl methyl silicon* (OV-225 là thích hợp).

Duy trì nhiệt độ cột ở 250 °C.

Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (3), nếu có xuất hiện các pic tương ứng với *dechlorogriseofulvin* (thời gian lưu bằng khoảng 0,6 lần thời gian lưu của griseofulvin) và/hoặc pic tương ứng với *dehydrogriseofulvin* (thời gian lưu bằng khoảng 1,4 lần thời gian lưu của griseofulvin) thì tỷ số giữa diện tích của pic tương ứng với *dechlorogriseofulvin* và pic tương ứng với *dehydrogriseofulvin* trên diện tích pic chất chuẩn nội lần lượt phải không quá 0,6 lần và 0,15 lần tỷ số giữa diện tích của pic griseofulvin trên diện tích pic chất chuẩn nội trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (1).

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn một hỗn hợp gồm 57 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat* 0,05 M (TT), 38 thể tích *acetonitril* (TT) và 5 thể tích *methanol* (TT). Điều chỉnh pH của hỗn hợp đến $3,7 \pm 0,2$ bằng *acid phosphoric* (TT).

Dung dịch chuẩn nội: Chuẩn bị một dung dịch *diazepam* trong *ethanol* (TT) có nồng độ 0,7 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên. Nghiền viên thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg griseofulvin, chuyển vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng 70 ml *ethanol* (TT), lắc siêu âm 30 phút, để nguội về nhiệt độ phòng. Thêm *ethanol* (TT) đến định mức và trộn đều. Lọc. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc thu được cho vào bình định mức 50 ml, thêm chính xác 5,0 ml dung dịch chuẩn nội rồi pha loãng với *ethanol* (TT) đến định mức và trộn đều.

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị tương tự như dung dịch thử, nhưng thay bột viên bằng một lượng cân chính xác khoảng 100 mg griseofulvin chuẩn.

Điều kiện sắc ký:

Cột: Thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) có chứa pha tĩnh C (5 µm hoặc 10 µm) (cột Lichrosorb RP18 là thích hợp).

Detector tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn theo chỉ dẫn trong phần cách tiến hành ở dưới đây. Hiệu lực cột xác định trên pic chính griseofulvin không ít hơn 800 đĩa lý thuyết. Hệ số phân giải giữa các pic của griseofulvin và diazepam phải lớn hơn 1,5.

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

Tính hàm lượng griseofulvin, $C_{17}H_{17}ClO_6$, trong viên từ tỷ số giữa diện tích pic griseofulvin trên diện tích pic diazepam thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và tỷ số giữa diện tích pic griseofulvin trên diện tích pic diazepam thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, và hàm lượng $C_{17}H_{17}ClO_6$ của griseofulvin chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

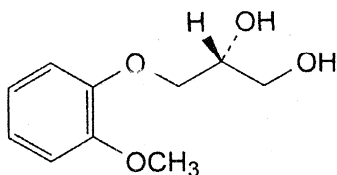
Loại thuốc

Thuốc kháng nấm.

Hàm lượng thường dùng

0,1 g; 0,25 g.

GUAIFENESIN



và đồng phân đối quang

$C_{10}H_{14}O_4$

P.t.l: 198,2

Guaifenesin là (2*RS*)-3-(2-methoxyphenoxy)propan-1,2-diol, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{10}H_{14}O_4$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng, hơi tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B

Nhóm II: A, C

A. Điểm chảy: Từ 79 °C đến 83 °C (Phụ lục 6.7).

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của guaifenesin chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Metylen clorid - propanol (20 : 80).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 30 mg guaifenesin chuẩn trong 10 ml methanol (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 30 mg chế phẩm trong 10 ml methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được hơn 2/3 bản mỏng, để khô bản mỏng ngoài không khí. Phun lên bản mỏng hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch kali fericyanid 1 %, dung dịch sắt (III) clorid 20 % và ethanol 96 % (TT). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT), đun nóng nhẹ nếu cần và pha loãng đến 50 ml với cùng dung môi.

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

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,05 ml dung dịch phenolphthalein (TT) vào 10 ml dung dịch S. Không được dùng quá 0,1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ) để làm thay đổi màu của chỉ thị.

Thêm 0,15 ml dung dịch đỏ methyl (TT) vào 10 ml dung dịch S. Không được dùng quá 0,1 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ) để làm chuyển màu của chỉ thị sang màu đỏ.

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Acid acetic băng - nước (10 : 990).

Pha động B: Acetonitril.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong acetonitril (TT) và pha loãng đến 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml bằng acetonitril (TT). Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng acetonitril (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg guaiacol (tạp chất A) trong acetonitril (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 0,5 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng acetonitril (TT).

Dung dịch phân giải (3): Hòa tan 50,0 mg guaiacol trong acetonitril (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 276 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành chạy sắc ký theo chương trình ở bảng sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 – 32	80 → 50	20 → 50
32 – 33	50 → 80	50 → 20
33 – 40	80	20

Tiêm lần lượt dung dịch phân giải, dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. So với thời gian lưu của guaifenesin (khoảng 8 phút) thời gian lưu tương đối của tạp chất B khoảng 0,9; của tạp chất A khoảng 1,4; của tạp chất C khoảng 3,1 và của tạp chất D khoảng 3,7. Độ phân giải giữa guaifenesin và tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải không được nhỏ hơn 3,0.

Giới hạn:

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

Diện tích pic của tạp chất B trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1 %).

Diện tích của bất kỳ pic tạp nào khác trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

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

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

Ghi chú:

Tạp chất A: 2-methoxyphenol (guaiacol).

Tạp chất B: 2-(2-methoxyphenoxy)propan-1,3-diol (B-isomer).

Tạp chất C: 1,1'-oxybis[3-(2-methoxyphenoxy)propan-2-ol] (bisether).

Tạp chất D: 1,3-bis(2-methoxyphenoxy)propan-2-ol.

Clorid và monoclorhydrin

Không được quá 250 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* vào 10 ml dung dịch S và đun nóng trên cách thủy 5 phút. Để nguội, thêm 3 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 25 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong một hỗn hợp *nước - ethanol 96 % (1 : 9)*, và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành thử theo

phương pháp 2. Pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu (TT)* trong hỗn hợp *nước - ethanol 96 % (1 : 9)* để thu được dung dịch chì mẫu 2 phần triệu. Dùng dung dịch chì mẫu 2 phần triệu này để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 60 °C; áp suất giảm; 3 h).

Tro sulfat

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

Định lượng

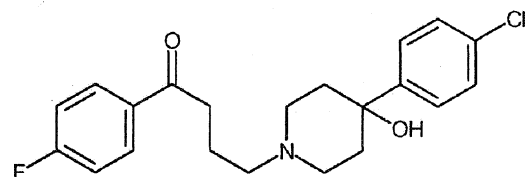
Thêm 10,0 ml hỗn hợp vừa mới chuẩn bị gồm 1 thể tích *anhydrid acetic (TT)* và 7 thể tích *pyridin (TT)* vào 0,500 g (*m* g) chế phẩm. Đun sôi dưới ống sinh hàn ngược 45 phút. Để nguội và thêm 25 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (CD)* sử dụng 0,25 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị (n_1 ml). Song song làm mẫu trắng (n_2 ml).

Tính hàm lượng phần trăm của guaifenesin $C_{10}H_{14}O_4$ bằng công thức:

$$\frac{19,82(n_2 - n_1)}{2m}$$

Loại thuốc

Long đờm.

HALOPERIDOL**Haloperidolum**

$C_{21}H_{23}ClFNO_2$

P.t.l: 375,9

Haloperidol phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % 4-[4-(4-chlorophenyl)-4-hydroxypiperidin-1-yl]-1-(4-fluorophenyl)butan-1-on, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, ít tan trong ethanol, methanol và methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, E.

Nhóm II: A, C, D, E.

A. Điểm chảy từ 150 °C đến 153 °C (Phụ lục 6.7).

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của haloperidol chuẩn. Chuẩn bị chế phẩm dưới dạng đĩa.

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

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel.

Dung môi khai triển: Tetrahydrofuran - methanol - dung dịch natri clorid 5,8 % (10 : 45 : 45)

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm thử trong methanol (TT) pha loãng với methanol (TT) thành 10 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg haloperidol chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg haloperidol chuẩn và 10 mg bromperidol chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 μ l của mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình chưa bão hòa dung môi khai triển trên một khoảng dài 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và kiểm tra dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng vị trí và kích thước như vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết riêng biệt cho dù không tách rời nhau hoàn toàn.

D. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml ethanol (TT). Thêm 0,5 ml dung dịch dinitrobenzen (TT) và 0,5 ml dung dịch kali hydroxyd 2 M trong ethanol (TT). Có màu tím xuất hiện và chuyển sang nâu đỏ sau 20 phút.

E. Cho 0,1 g chế phẩm vào chén sứ, thêm 0,5 g natri carbonat khan (TT). Đun nóng trên ngọn lửa trong 10 phút. Để nguội. Hòa tan cẩn bằng 5 ml dung dịch acid nitric loãng (TT) và lọc. Hòa loãng 1 ml dịch lọc bằng 1 ml nước. Dung dịch thu được cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch chế phẩm 1,0 % trong dung dịch acid lactic 1,0 % (tt/tt) trong nước phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động:

Pha động A: Dung dịch tetrabutylamoni hydrogen sulfat 1,7 %.

Pha động B: Acetonitril (TT)

Chương trình dung môi:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (%tt/tt)	Ghi chú
0 – 15	90 → 50	10 → 50	Gradient tuyến tính
15 – 20	50	50	Đẳng dòng
20 – 25	90	10	Chuyển về tỷ lệ ban đầu

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng bằng methanol (TT) thành 10,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg haloperidol chuẩn và 2,5 mg bromperidol chuẩn trong methanol và pha loãng với methanol (TT) thành 50,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng methanol (TT). Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng methanol (TT).

Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi sử dụng và tránh ánh sáng.

Điều kiện sắc ký:

Cột sắc ký (10 cm × 4,6 mm, 3 μ m) nhồi base-deactivated octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt tại bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Cách tiến hành:

Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) ít nhất đạt 50 % của thang đo.

Tiêm 10 μ l dung dịch đối chiếu (1). Trong các điều kiện sắc ký ở trên, thời gian lưu của haloperidol khoảng 5,5 phút và bromperidol khoảng 6 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic của haloperidol và bromperidol đạt ít nhất là 3,0. Nếu cần thiết, có thể điều chỉnh tỷ lệ acetonitril trong pha động hay điều chỉnh thời gian của chương trình gradient dung môi.

Tiêm lần lượt 10 μ l methanol (TT) làm mẫu trắng, 10 μ l dung dịch thử và 10 μ l dung dịch đối chiếu (2). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: diện tích của bất cứ pic nào không phải là pic chính cũng không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %); tổng diện tích của tất cả các pic không phải là pic chính không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1 %). Bỏ qua các pic tương ứng với pic thu được trên sắc ký đồ của mẫu trắng và các pic nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6). (1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Định lượng

Trong quá trình định lượng phải tránh ánh sáng.
Cân 0,300 g chế phẩm, hòa tan trong 50 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích *acid acetic khan* (TT) và 7 thể tích *methylethylketon* (TT). Thêm 2 giọt *dung dịch α -naphtholbenzein* (TT) và chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) đến khi dung dịch chuyển thành màu xanh (Phụ lục 10.6). Song song tiến hành làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 37,59 mg $C_{21}H_{23}ClFNO_2$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

An thần.

Chế phẩm

Viên nén, nang, thuốc tiêm, dung dịch uống, dung dịch uống nồng độ cao.

VIÊN NÉN HALOPERIDOL

Tabellae Haloperidoli

Là viên nén chứa haloperidol.

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

Hàm lượng haloperidol, $C_{21}H_{23}ClFNO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

Cân một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 10 mg haloperidol, thêm 10 ml *nước* và 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT), lắc kỹ và chiết với 10 ml *ether* (TT). Lọc dịch chiết ether qua lớp bông, bốc hơi dịch lọc đến khô và sấy cần thu được ở nhiệt độ 60 °C, áp suất không quá 0,7 kPa. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cần phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của haloperidol hay với phổ của haloperidol chuẩn.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - dung dịch amoni acetat - nước - 1,4-dioxan (0,5 : 20 : 20 : 60).

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg haloperidol với 10 ml *cloroform* (TT), lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cần trong 1 ml *cloroform* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích bằng *cloroform* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí. Sấy bản mỏng dưới dòng khí ẩm trong 15 phút và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu cho vết rõ ràng.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Áp dụng cho viên nén có hàm lượng haloperidol dưới 2 mg.

Pha động: Dung dịch amoni acetat 1,0 % - acetonitril (55 : 45).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng haloperidol chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,005 %.

Dung dịch thử: Cho 1 viên nén vào 10 ml pha động, để cho viên rã hoàn toàn và lắc siêu âm 2 phút, ly tâm để thu được dung dịch trong. Pha loãng bằng pha động (nếu cần) để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,005 %.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 247 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

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

Tính hàm lượng haloperidol, $C_{21}H_{23}ClFNO_2$, có trong một viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ của haloperidol chuẩn.

Định lượng

Cho viên nén có hàm lượng haloperidol không dưới 2 mg

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động và điều kiện sắc ký thực hiện như trong phần Độ đồng đều hàm lượng.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng haloperidol chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,020 %.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg haloperidol vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động và lắc siêu âm 2 phút. Pha loãng bằng pha động tới định mức, lắc đều. Lọc.

Cách tiến hành:

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

Tính hàm lượng haloperidol, $C_{21}H_{23}ClFNO_2$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ của haloperidol chuẩn.

Cho viên nên có hàm lượng haloperidol dưới 2 mg

Sử dụng giá trị trung bình của 10 kết quả thu được trong phần Độ đồng đều hàm lượng.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

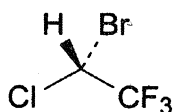
Thuốc an thần.

Hàm lượng thường dùng

0,5 mg, 1 mg, 1,5 mg, 2 mg, 5 mg, 10 mg và 20 mg.

HALOTHAN

Halothanum



và đồng phân đối quang

$C_2HBrClF_3$

P.t.l: 197,4

Halothan là (RS)-2-bromo-2-cloro-1,1,1-trifluoroethan và được thêm 0,01 % (kl/kl) thymol.

Tính chất

Chất lỏng trong, không màu, tính linh động, nặng, không dễ cháy, khó tan trong nước, hòa trộn được với ethanol, ether và trichloroethylen.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B

Nhóm II: A, C

A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử khoảng chưng cất.
B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của halothan. Phổ của chế phẩm được đo trong cồng có độ dày 0,1 mm.

C. Thêm 0,1 ml chế phẩm vào 2 ml 2-methyl-2-propanol (TT). Thêm 1 ml dung dịch đồng edetat (TT); 0,5 ml amoniac đậm đặc (TT) và một hỗn hợp gồm 0,4 ml dung dịch hydrogen peroxyl 100 tt (TT) và 1,6 ml nước. Đun nóng trong cách thủy ở 50 °C trong 15 phút, làm nguội và thêm 0,3 ml acid acetic băng (TT). Song song làm mẫu trắng.

Lấy 1 ml mỗi dung dịch thử và trắng thêm vào 0,5 ml hỗn hợp đồng thể tích vừa mới chuẩn bị của dung dịch alizarin S (TT) và dung dịch zirconyl nitrat (TT).

Dung dịch thử có màu vàng và dung dịch trắng có màu đỏ.

Lấy 1 ml mỗi dung dịch thử và trắng thêm vào 1 ml dung dịch đệm pH 5,2, 1 ml dung dịch đỏ phenol (TT) đã được pha loãng 10 lần bằng nước và 0,1 ml dung dịch cloramin 2 % (TT). Dung dịch thử có màu xanh tím và dung dịch trắng có màu vàng.

Lấy 2 ml mỗi dung dịch thử và trắng thêm vào 0,5 ml hỗn hợp acid sulfuric - nước (25 : 75); 0,5 ml aceton (TT) và 0,2 ml dung dịch kali bromat 5 % và lắc đều. Đun nóng trong cách thủy ở 50 °C trong 2 phút, làm nguội và thêm 0,5 ml hỗn hợp đồng thể tích của acid nitric (TT) và nước, và thêm 0,5 ml dung dịch bạc nitrat 1,7 %. Dung dịch thử bị đục và tủa trắng xuất hiện sau vài phút, dung dịch trắng vẫn trong.

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 20 ml nước không có carbon dioxyd (TT) vào 20 ml chế phẩm, lắc trong 3 phút và để tách lớp. Lấy lớp nước và thêm vào 0,2 ml dung dịch đỏ tia bromocresol (TT). Không được dùng quá 0,1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CD) hay 0,6 ml dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (CD) để làm chuyển màu của chỉ thị.

Tỷ trọng

Từ 1,872 đến 1,877 (Phụ lục 6.5).

Khoảng chưng cất

Chế phẩm được cất hoàn toàn ở nhiệt độ từ 49,0 °C đến 51,0 °C và 95 % chế phẩm được cất trong vòng 1,0 °C.

Tạp chất bay hơi

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2). Không được quá 0,005 %.

Sử dụng trichlorotrifluoroethan chuẩn làm chất chuẩn nội.

Dung dịch thử (1): Sử dụng chế phẩm.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml trichlorotrifluoroethan chuẩn thành 100,0 ml bằng chế phẩm. Pha loãng tiếp 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng chế phẩm. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng chế phẩm.

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (2,75 m × 5 mm) được nhồi diatomit đã được silan hóa dùng cho sắc ký khí có kích thước từ 180 µm đến 250 µm; 1,8 m đầu tiên được tẩm với 30 % (kl/kl) của macrogol 400 (TT) và phần còn lại được tẩm với 30 % (kl/kl) của dinonyl phthalat (TT).

Khí mang: Nitrogen dùng cho sắc ký khí, lưu lượng là 30 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ cột ở 50 °C.

Thể tích tiêm: 5 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm các dung dịch thử. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), tổng diện tích các pic phụ, trừ pic chính và pic

chuẩn nội, không được lớn hơn diện tích pic chuẩn nội, hiệu chỉnh nếu bất kỳ pic tạp nào có cùng thời gian lưu với pic chuẩn nội.

Bromid và clorid

Dung dịch S: Lấy 10 ml chế phẩm thêm vào 20 ml nước và lắc trong 3 phút và lấy lớp nước.

Lấy 5 ml dung dịch S thêm vào 5 ml nước, 0,05 ml acid nitric (TT) và 0,2 ml dung dịch bạc nitrat 4,25 % (TT). Dung dịch này không được đục hơn hỗn hợp của 5 ml dung dịch S và 5 ml nước.

Brom và clor

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 1 ml dung dịch kali iodid - tinh bột (TT). Không được có màu xanh.

Thymol

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 0,10 g menthol (TT) trong methylen clorid (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Lấy 20,0 ml chế phẩm và thêm vào 5,0 ml dung dịch chuẩn nội.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20,0 mg thymol (TT) trong methylen clorid (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Lấy 20 ml dung dịch này và thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội.

Điều kiện sắc ký:

Cột mao quản silica nung chảy (15 m × 0,53 mm) được bao một lớp film mỏng 1,5 μm của poly (dimethyl) siloxan.

Khí mang: Nitrogen dùng cho sắc ký khí, lưu lượng 15 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ: Cột ở 150 °C, buồng tiêm ở 170 °C và detector ở 200 °C.

Thể tích tiêm: 1,0 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch chuẩn nội, dung dịch đối chiếu và dung dịch thử.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic thymol không được nhỏ hơn 75 % và không được lớn hơn 115 % diện tích của pic thymol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu [0,008 % đến 0,012 % (kl/kl)].

Cẩn không bay hơi

Không được quá 0,002 %.

Làm bay hơi 50 ml chế phẩm tới khô trên cách thủy và sấy cẩn trọng tủ sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 2 giờ. Khối lượng cẩn còn lại không được quá 1 mg.

Bảo quản

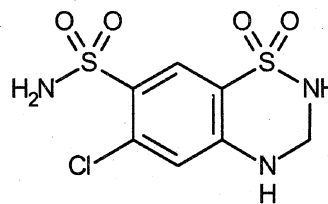
Đựng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 25 °C. Nguyên liệu làm đồ đựng phải không tương kỵ với halothan.

Loại thuốc

Thuốc mê bay hơi hít qua đường thở.

HYDROCHLOROTHIAZID

Hydrochlorothiazidum



$C_7H_8ClN_3O_4S_2$

P.t.l: 297,7

Hydrochlorothiazid phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % 6-cloro-3,4 dihydro-2H-1,2,4 benzothiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioxyd, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, rất ít tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, tan trong acetone, tan trong dung dịch kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

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

B. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 10 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT) và pha loãng bằng nước thành 100,0 ml. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT). Đo phổ hấp thụ ánh sáng trong khoảng bước sóng từ 250 nm đến 350 nm, dung dịch phải thể hiện cực đại hấp thụ tại các bước sóng 273 nm và 323 nm. Tỷ lệ giữa độ hấp thụ đo được tại bước sóng 273 nm so với tại bước sóng 323 nm phải từ 5,4 đến 5,7.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong acetone (TT) và pha loãng thành 10 ml bằng acetone (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg hydrochlorothiazid chuẩn trong acetone (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg clorothiazid (TT) trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 μl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký trên một khoảng dài 10 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc đồ của dung dịch thử phải có cùng vị trí và kích thước với vết chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách biệt rõ ràng.

D. Đun nóng nhẹ khoảng 1 mg chế phẩm với 2 ml dung dịch vừa mới pha có chứa 0,05 % muối natri của acid chromotropic trong hỗn hợp đã làm nguội gồm 35 thể tích nước và 65 thể tích acid sulfuric (TT). Có màu tím xuất hiện.

Giới hạn acid - kiềm

Lắc 0,5 g chế phẩm dạng bột với 25 ml nước trong 2 phút và lọc. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ) và 0,15 ml dung dịch đỏ methyl (TT). Dung dịch phải có màu vàng. Không được dùng nhiều quá 0,4 ml dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (CĐ), dung dịch phải chuyển sang màu đỏ.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động:

Pha động A: thêm 60 ml methanol (TT) và 10 ml tetrahydrofuran (TT) vào 940 ml dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT) và trộn đều.

Pha động B: thêm 50 ml tetrahydrofuran (TT) vào hỗn hợp gồm 500 ml methanol (TT) và 500 ml dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT), trộn đều.

Chương trình dung môi:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 17	100 → 55	0 → 45	Gradient tuyến tính
17 - 30	55	45	Đẳng dòng
30 - 35	55 → 100	45 → 0	Gradient tuyến tính
35 - 50	100	0	Đẳng dòng

Dung môi hòa tan: Pha loãng 50,0 ml hỗn hợp đồng thể tích của acetonitril (TT) và methanol (TT) thành 200,0 ml bằng dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong 5 ml hỗn hợp đồng thể tích của acetonitril (TT) và methanol (TT), có thể lắc siêu âm nếu cần thiết, sau đó pha loãng thành 20,0 ml bằng dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 15,0 mg hydrochlorothiazid chuẩn và 15,0 mg clorothiazid chuẩn trong 25 ml hỗn hợp đồng thể tích của acetonitril (TT) và methanol (TT), lắc siêu âm nếu cần, và pha loãng thành 100,0 ml bằng dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT). Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung môi hòa tan.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng dung môi hòa tan. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 224 nm.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min

Cách tiến hành: Cân bằng cột ít nhất 20 phút bằng pha động A. Sử dụng chương trình dung môi như trên, điều chỉnh độ nhạy của hệ thống để chiều cao pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cao ít nhất bằng 50 % thang đo.

Tiêm 10 μl dung dịch đối chiếu (1) vào hệ thống sắc ký. Khi sử dụng điều kiện sắc ký như mô tả ở trên, thời gian lưu của clorothiazid khoảng 7 phút và hydrochlorothiazid khoảng 8 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic của clorothiazid và hydrochlorothiazid đạt ít nhất 2,5. Nếu cần thiết có thể điều chỉnh thành phần pha động hay thời gian chạy gradient tuyến tính.

Tiêm riêng biệt 10 μl dung môi pha mẫu làm mẫu trắng, 10 μl dung dịch thử và 10 μl dung dịch đối chiếu (2). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: diện tích của bất cứ pic nào không phải là pic chính không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %); tổng diện tích của tất cả các pic ngoài pic chính không được lớn hơn hai lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1 %). Bỏ qua các pic của dung môi hay các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Clorid

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 25 ml aceton (TT) và pha loãng thành 30 ml bằng nước. Dùng 15 ml dung dịch này để thử. Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 ml aceton (TT) chứa 15 % (tt/tt) nước, thêm vào 10 ml dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu (TT).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,10 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,120 g chế phẩm trong 50 ml dimethylsulfoxid (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế ở điểm uốn thứ hai (Phụ lục 10.2). Tiến hành làm mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CĐ) tương đương với 14,88 mg C₇H₈ClN₃O₄S₂.

Bảo quản

Trong lọ kín.

Loại thuốc

Lợi tiểu.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN HYDROCHLOROTHIAZID**Tabellae Hydrochlorothiazidi**

Là viên nén chứa hydrochlorothiazid.

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

Hàm lượng hydrochlorothiazid, $C_7H_8ClN_3O_4S_2$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng, không mùi, vị hơi đắng.

Định tính

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄

Dung môi khai triển: Ethyl acetat (TT)

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột viên đã nghiền nhỏ có chứa 10 mg hydrochlorothiazid với 10 ml acetone (TT), lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha dung dịch hydrochlorothiazid chuẩn 0,1 % trong acetone (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra làm khô bằng một luồng khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Sau đó tiếp tục phun bản mỏng *dung dịch acid sulfuric 20 % trong ethanol 96 %* (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 30 phút và ngay lập tức đặt vào bình thủy tinh kín chứa hơi acid nitric trong 15 phút [hơi acid nitric có thể được tạo ra bằng cách nhỏ từng giọt *dung dịch acid sulfuric 7 M* (TT) vào một dung dịch chứa 10 % natri nitrit (TT) và 3 % kali iodid (TT)]. Đặt bản mỏng dưới một luồng khí ẩm trong 15 phút và phun *dung dịch N-(1-naphthyl) ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % trong ethanol 96 %*. Nếu cần, để khô và phun lại một lần nữa.

Ở mỗi cách phát hiện, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và độ đậm với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Tetrahydrofuran - methanol - dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT₁) (10 : 60 : 940).

Pha động B: Tetrahydrofuran - methanol - dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT₁) (50 : 500 : 500).

Dung dịch thử: Chiết một lượng bột thuốc đã nghiền chứa 50 mg hydrochlorothiazid với 25 ml hỗn hợp đồng thể tích acetonitril (TT) và methanol (TT) (dung môi A) và pha loãng thành 100 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 3,2* (TT₁). Lọc qua phễu lọc sợi thủy tinh (Whatman 0,45 μ GD/X là loại thích hợp).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp methanol - acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT₁) (1 : 1 : 2).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 15 mg hydrochlorothiazid chuẩn và 15 mg clorothiazid chuẩn trong 25 ml dung môi A rồi pha loãng thành 100 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 3,2* (TT₁). Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với dung môi A.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm $\times$ 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (3 μ m) (Cột Phenosphere ODS 3 μ là phù hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 224 nm.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/phút.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột ít nhất 20 phút bằng pha động A. Sử dụng chương trình gradient dung môi như sau :

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Chú thích
0 - 17	100 $\rightarrow$ 55	0 $\rightarrow$ 45	Gradient tuyến tính
17 - 30	55	45	Đẳng dòng
30 - 35	55 $\rightarrow$ 100	45 $\rightarrow$ 0	Gradient tuyến tính
35 - 50	100	0	Đẳng dòng
50 = 0	100	0	Trở về thành phần dung môi ban đầu

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2), hệ số phân giải giữa pic hydrochlorothiazid và clorothiazid không nhỏ hơn 2,5. Nếu cần thì điều chỉnh tỉ lệ pha động hoặc chương trình thời gian của gradient tuyến tính.

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1 %) và tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (2,5 %).

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

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 30 mg hydrochlorothiazid, thêm 50 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (TT), lắc 20 phút và thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (TT) đến vừa đủ 100 ml. Lắc đều, lọc, hút chính xác 5 ml dịch lọc pha loãng đến vừa đủ 100 ml bằng nước. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở cực đại 273 nm.

Tính hàm lượng hydroclorothiazid, $C_7H_8ClN_3O_4S_2$, theo A (1 %, 1cm). Lấy 520 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 273 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

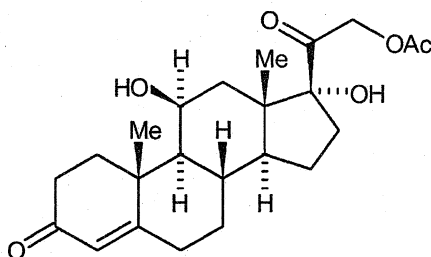
Thuốc lợi tiểu.

Hàm lượng thường dùng

25 mg, 100 mg.

HYDROCORTISON ACETAT

Hydrocortisoni acetat



$C_{23}H_{32}O_6$

P.t.l: 404,5

Hydrocortison acetat là 11 β , 17, 21-trihydroxypregn-4-en-3, 20-dion 21-acetat, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{23}H_{32}O_6$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.

Thực tế không tan trong nước, khó tan trong ethanol và methylen clorid.

Chảy ở khoảng 220 °C, đồng thời bị phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của hydrocortison acetat chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Trộn đều 1 thể tích hỗn hợp nước - methanol (1,2 : 8) với 1 thể tích hỗn hợp ether-methylen clorid (15 : 77).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp methanol - methylen clorid (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg hydrocortison acetat chuẩn trong hỗn hợp methanol - methylen clorid (1 : 9), pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg cortison acetat chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 10 ml bằng dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, kích thước với vết chính thu được trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phun lên bản mỏng *dung dịch ethanol trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 10 phút hoặc cho đến khi thấy vết hiện rõ, để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc đồ thu được của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại 365 nm và kích thước với vết chính thu được trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Trộn đều 1 thể tích hỗn hợp nước - methanol (1,2 : 8) với 1 thể tích hỗn hợp ether - methylen clorid (15 : 77).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25 mg chế phẩm trong methanol (TT), pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Dung dịch này được sử dụng để chuẩn bị dung dịch thử (2). Pha loãng 2 ml dung dịch này thành 10 ml bằng methylen clorid (TT).

Dung dịch thử (2): Lấy 2 ml dung dịch thu được trong khi chuẩn bị dung dịch thử (1) cho vào ống nghiệm thủy tinh 15 ml có nút thủy tinh hoặc nút bằng polytetrafluoroethylen. Thêm 10 ml *dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol* và ngay lập tức cho một luồng khí nitrogen (TT) đi qua trong 5 phút. Đậy ống nghiệm. Đun nóng trong cách thủy ở 45 °C trong 2 giờ 30 phút, tránh ánh sáng. Sau đó để nguội.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg hydrocortison acetat chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Dung dịch này được dùng để chuẩn bị dung dịch đối chiếu (2). Pha loãng 2 ml dung dịch này thành 10 ml bằng methylen clorid (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 2 ml dung dịch thu được khi chuẩn bị dung dịch đối chiếu (1) cho vào ống nghiệm thủy tinh 15 ml có nút thủy tinh hoặc nút bằng polytetrafluoroethylen. Thêm 10 ml *dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol* và ngay lập tức cho một luồng khí nitrogen (TT) đi qua trong 5 phút. Đậy ống nghiệm. Đun cách thủy ở 45 °C trong 2 giờ 30 phút, tránh ánh sáng. Sau đó để nguội.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung

môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trong mỗi sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải giống về vị trí, kích thước với vết chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng. Phun *dung dịch ethanol* trong *acid sulfuric (TT)* và sấy bản mỏng ở 120 °C trong 10 phút, hoặc cho đến khi vết hiện rõ, để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên mỗi sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm, và kích thước với vết chính thu được trên các sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng. Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có giá trị R_f thấp hơn giá trị R_f của vết chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

D. Thêm khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc đến khi tan. Trong vòng 5 phút, màu đỏ nâu đậm dần lên có kèm ánh huỳnh quang xanh, huỳnh quang sẽ rõ hơn khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Thêm vào dung dịch 10 ml *nước* và trộn đều. Màu sẽ nhạt dần và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại không còn nữa.

E. Khoảng 10 mg chế phẩm cho phản ứng của nhóm acetyl (Phụ lục 8.1).

Góc quay cực riêng

Từ +158° đến +167°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dioxan (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn đều 400 ml *acetonitril (TT)* với 550 ml *nước*, để cân bằng và điều chỉnh thể tích thành 1000 ml bằng *nước*, trộn đều lại.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg hydrocortison acetat chuẩn và 2 mg cortison acetat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

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

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *octadecylsilyl silica gel (TT)* dùng cho sắc ký (5 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột với pha động trong khoảng 30 phút với tốc độ 1 ml/min.

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính không được dưới 50 % của thang đo.

Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Với sắc ký đồ ghi trong điều kiện đã mô tả ở trên: thời gian lưu của hydrocortison acetat khoảng 10 phút và cortison acetat khoảng 12 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa các pic tương ứng với hydrocortison acetat và cortison acetat ít nhất là 4,2. Nếu cần thiết, điều chỉnh nồng độ của acetonitril trong pha động.

Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Tiến hành chạy sắc ký trong khoảng thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của pic chính. Trong sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %) và chỉ được 1 pic phụ có diện tích lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Tổng diện tích của tất cả các pic phụ, trừ pic chính không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %). Bỏ qua bất cứ pic nào do dung môi và pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 241,5 nm. Tính hàm lượng $C_{23}H_{32}O_6$ theo A (1 %, 1 cm), sử dụng độ hấp thụ riêng là 395.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống viêm steroid.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, kem, thuốc mỡ.

THUỐC TIÊM HYDROCORTISON ACETAT

Injectio Hydrocortisoni acetat

Là hỗn dịch vô khuẩn của hydrocortison acetat trong dung môi thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu qui định về hỗn dịch tiêm trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng hydrocortison acetat, $C_{23}H_{32}O_6$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Hỗn dịch màu trắng.

Định tính

Lấy chính xác một thể tích hỗn dịch tiêm tương ứng với khoảng 50 mg hydrocortison acetat, chiết 2 lần, mỗi lần với 10 ml *ether không có peroxyd* (TT), bỏ dịch chiết ether. Lọc lớp nước còn lại qua phễu hút chân không. Rửa cặn trên phễu lọc với từng lượng nước nhỏ. Sấy khô cặn ở 105 °C trong 1 giờ. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của hydrocortison acetat.

pH

5,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị một dung dịch của hydrocortison acetat chuẩn trong *ethanol 96 %* (TT) có nồng độ 0,01 mg/ml. Lấy chính xác 20 ml dung dịch trên cho vào bình nón nút mài 50 ml (bình A).

Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích hỗn dịch chế phẩm tương ứng với khoảng 50 mg hydrocortison acetat, pha loãng với nước thành 15 ml. Chiết 4 lần, mỗi lần với 25 ml *cloroform* (TT), lọc dịch chiết cloroform qua bông đã tẩm ướt bằng *cloroform* (TT) vào bình định mức 250 ml, thêm *cloroform* (TT) đến định mức, lắc đều. Lấy chính xác 10 ml dung dịch trên vào bình định mức 100 ml, thêm *cloroform* (TT) tới định mức. Lấy chính xác 10 ml dung dịch thu được cho vào bình nón nút mài 50 ml, bốc hơi cloroform trên cách thủy đến khô, để nguội, hòa tan cặn trong 20,0 ml *ethanol 96 %* (TT) (bình B).

Thêm vào mỗi bình chuẩn (A) và bình thử (B) 2,0 ml *dung dịch xanh tetrazolium 0,5 % trong ethanol 96 %* (TT), tiếp tục thêm 2,0 ml hỗn hợp gồm *ethanol 96 %* (TT) và *dung dịch tetramethyl amoni hydroxyd* (TT) (9 : 1). Để yên trong tối 90 phút. Song song tiến hành một mẫu trắng trong cùng điều kiện với 20,0 ml *ethanol 96 %* (TT).

Đo ngay độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 525 nm, trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng được chuẩn bị ở trên.

Tính hàm lượng hydrocortison acetat, $C_{23}H_{32}O_6$, trong mỗi ml hỗn dịch tiêm dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{23}H_{32}O_6$ trong hydrocortison acetat chuẩn.

Bảo quản

Đựng trong chai lọ kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống viêm steroid.

Hàm lượng thường dùng

25 mg/ml, 50 mg/ml.

THUỐC MỠ HYDROCORTISON ACETAT

Unguentum Hydrocortisoni acetat

Là thuốc mỡ dùng ngoài, để bôi trên da có chứa hydrocortison acetat. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc mỡ dùng trên da và niêm mạc” (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng hydrocortison acetat, $C_{23}H_{32}O_6$, từ 90,0 % đến 110 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải cho pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic hydrocortison acetat trong sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Dicloromethan - ether - methanol - nước* (77 : 15 : 8 : 1,2)

Đối với thuốc mỡ có chứa trên 0,5 % (kl/kl) hydrocortison acetat

Dung dịch thử: Phân tán một lượng chế phẩm có chứa 25 mg hydrocortison acetat trong 5 ml *hexan* (TT) nóng, làm nguội, chiết với 10 ml *methanol 90 %* và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Sử dụng một hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch thử ở trên và một dung dịch có chứa 0,25 % hydrocortison acetat chuẩn trong *methanol* (TT).

Đối với thuốc mỡ có chứa không lớn hơn 0,5 % (kl/kl) hydrocortison acetat

Dung dịch thử: Phân tán một lượng chế phẩm có chứa 5 mg hydrocortison acetat trong 5 ml *hexan* (TT) nóng, làm nguội, chiết với 10 ml *methanol 90 %* và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Sử dụng một hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch thử ở trên và một dung dịch có chứa 0,05 % hydrocortison acetat chuẩn trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành :

Chấm riêng biệt 5 µl mỗi một dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun thuốc thử hiện màu *dung dịch xanh tetrazolium* (TT).

Vết chính trong sắc ký đồ thu được với dung dịch thử phải phù hợp về vị trí và màu sắc với vết chính trong sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu chỉ cho một vết chồng lên nhau của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol - nước* (1 : 1)

Thuốc mỡ có chứa trên 0,5 % (kl/kl) hydrocortison acetat

Dung dịch chuẩn nội: Dung dịch betamethason 0,5 % trong *methanol* (TT).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 25 mg hydrocortison acetat chuẩn, hòa tan trong 45 ml *methanol* (TT) thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và thêm nước vừa đủ 100,0 ml.

Dung dịch thử: Phân tán một lượng chế phẩm cân chính xác có chứa khoảng 25 mg hydrocortison acetat trong 100 ml *hexan* (TT) nóng, để nguội và chiết với 20 ml hỗn hợp được chuẩn bị bằng cách trộn 3 thể tích *methanol* (TT) và 1 thể tích *dung dịch natri clorid* 15 %. Tiếp tục chiết 2 lần nữa, mỗi lần 10 ml với cùng một dung môi chiết trên. Gộp các dịch chiết, thêm 5 ml *methanol* (TT) và thêm nước vừa đủ tới 100,0 ml. Trộn và lọc qua phễu lọc thủy tinh (Whatman GF/C là phù hợp).

Thuốc mỡ có chứa không lớn hơn 0,5 % (kl/kl) hydrocortison acetat

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 5 mg hydrocortison acetat chuẩn, hòa tan trong 45 ml *methanol* (TT), thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội betamethason 0,110 % trong *methanol* (TT) và thêm nước vừa đủ 100,0 ml.

Dung dịch thử: Chuẩn bị một dung dịch thử theo cùng một cách như trên, nhưng sử dụng một lượng chế phẩm có chứa 5 mg hydrocortison acetat.

Trong mỗi trường hợp chuẩn bị một dung dịch thử 3 trong cùng một cách như dung dịch thử nhưng thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội thay cho 5 ml *methanol* trước khi thêm nước tới vừa đủ 100,0 ml.

Điều kiện sắc ký :

Cột thép không gỉ (10 cm × 5,0mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Spherisorb ODS 1 là thích hợp).

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

Tốc độ dòng 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký lần lượt các dung dịch trên.

Tính hàm lượng hydrocortison acetat, $C_{23}H_{32}O_6$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{23}H_{32}O_6$ trong hydrocortison acetat chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Thuốc chống viêm steroid.

Hàm lượng thường dùng

0,25 %, 1 %, 2,5 %.

THUỐC NHỎ MẮT HYDROCORTISON VÀ NEOMYCIN

Collyrium Hydrocortisoni et Neomycini

Thuốc nhỏ mắt hydrocortison và neomycin là hỗn dịch vô trùng của hydrocortison acetat trong dung dịch của neomycin sulfat trong nước.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng hydrocortison acetat, $C_{23}H_{32}O_6$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng neomycin, từ 90,0 % đến 130,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Hỗn dịch màu trắng đục, đồng nhất khi lắc kỹ.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: *Methanol* - amoniac - cloroform (60 : 40 : 20).

Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích của thuốc nhỏ mắt chứa 3500 IU neomycin thành 2,5 ml bằng nước, lắc kỹ với 3 ml *cloroform* (TT), ly tâm và sử dụng lớp nước phía trên.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch neomycin sulfat chuẩn 0,2 %.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra và để bản mỏng khô ngoài không khí. Phun lên bản mỏng *dung dịch ninhydrin* 1 % trong *n-butanol* (TT) và sấy ở 105 °C trong 2 phút. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

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

pH

Từ 5,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Neomycin

Lấy chính xác một thể tích chế phẩm có chứa khoảng 3500 IU neomycin vào bình định mức 50 ml, thêm *dung dịch đệm số 2* (TT) tới định mức. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này với cùng một dung môi trên thành 100,0 ml. Tiến hành định lượng theo chuyên luận "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).

Hydrocortison acetat

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Butyl clorid* - *butyl clorid* bão hòa nước - *tetrahydrofuran* - *methanol* - *acid acetic* băng (95 : 95 : 14 : 7 : 6).

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan một lượng cân chính xác fluoxymesteron trong *cloroform* (TT) để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,8 mg/ml.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg hydrocortison acetat chuẩn, hòa tan trong 10,0 ml dung dịch chuẩn nội và 40,0 ml *cloroform* (TT). Lọc.

Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm, đã lắc kỹ và không có bọt khí, tương đương với 10 mg hydrocortison acetat vào bình gạn thích hợp. Thêm chính xác 10,0 ml dung dịch chuẩn nội và 40,0 ml *cloroform* (TT), lắc kỹ trong khoảng 5 phút và để phân lớp hoàn toàn. Lấy lớp *cloroform* làm dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (30 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh A (10 μm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, thời gian lưu tương đối của hydrocortison acetat là 0,7 và fluoxymesteron là 1,0. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic hydrocortison acetat và chuẩn nội không nhỏ hơn 3,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

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

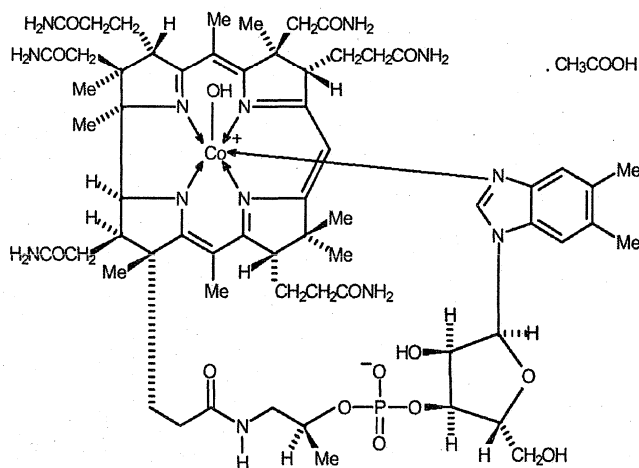
Tính hàm lượng hydrocortison acetat, $C_{23}H_{32}O_6$, trong chế phẩm dựa vào tỷ lệ giữa diện tích pic của hydrocortison acetat và diện tích pic chuẩn nội thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{23}H_{32}O_6$ trong hydrocortison acetat chuẩn.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

HYDROXOCOBALAMIN ACETAT

Hydroxocobalamini acetat



$C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P.C_2H_4O_2$

P.t.l: 1406,0

Hydroxocobalamin acetat là $Co\alpha - [\alpha-(5,6\text{-dimethylbenzimidazolyl})] - Co\beta - \text{hydroxocobamid acetat}$, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P.C_2H_4O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hoặc tinh thể màu đỏ đậm, tan trong nước và rất hút ẩm. Có thể bị phân hủy khi sấy khô.

Định tính

A. Hòa tan 2,5 mg chế phẩm trong dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) *acid acetic khan* (TT) và 1,09 % *natri acetat* (TT) rồi pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại - khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên trong khoảng 260 nm đến 610 nm có ba đỉnh hấp thụ cực đại ở 274 nm, 351 nm và 525 nm. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 274 nm so với độ hấp thụ ở 351 nm từ 0,75 đến 0,83. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 525 nm so với độ hấp thụ ở 351 nm từ 0,31 đến 0,35.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 10 % - *methanol* (25 : 75).

Dung dịch thử: Hòa tan 2 mg chế phẩm trong 1 ml dung dịch đồng thể tích *ethanol* 96 % (TT) và nước.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 2 mg hydroxocobalamin acetat chuẩn trong 1 ml dung dịch đồng thể tích *ethanol* 96 % (TT) và nước.

Cách tiến hành: Tiến hành tránh ánh sáng.

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình sắc ký không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 12 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng của acetat (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), sử dụng các dung dịch mới pha và trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động gồm 19,5 thể tích *methanol* (TT) và 80,5 thể tích dung dịch có chứa 1,5 % *acid citric* (TT) và 0,81 % *dinatri hydrophosphat* (TT) trong nước.

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong pha động vừa đủ 10,0 ml.

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

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Hút 1,0 ml dung dịch này pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 10 ml nước, làm nóng nếu cần thiết. Để nguội và thêm

1 ml dung dịch cloramin T 2 % (TT), 0,5 ml dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT), pha loãng thành 25 ml bằng nước. Lắc, để yên trong 5 phút và tiêm ngay.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4 mm) nhồi pha tĩnh B (octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký, 5 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 351 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm riêng biệt mỗi dung dịch và tiếp tục chạy sắc ký trong khoảng thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Trong sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích của các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (5 %). Bỏ qua tất cả các pic mà diện tích của chúng nhỏ hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải có 3 pic chính và hệ số phân giải giữa hai pic gần nhau ít nhất là 3,0; sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 1 pic chính và tỷ số tín hiệu của pic này so với độ nhiễu đường nền ít nhất là 5.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 8,0 đến 12,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,400 g; 100 °C đến 105 °C; áp suất không quá 0,7 kPa).

Định lượng

Cần phải tránh ánh sáng trong quá trình định lượng.

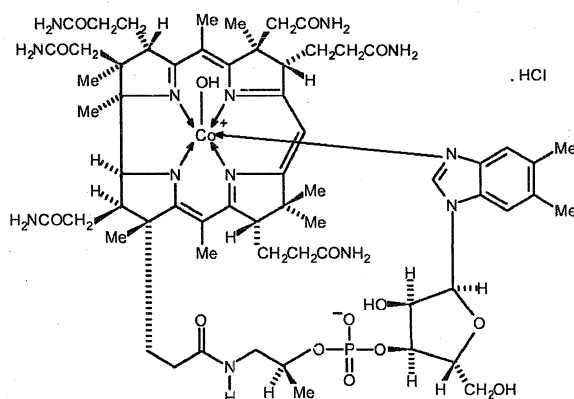
Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) acid acetic khan (TT) và 1,09 % natri acetat (TT), rồi pha loãng đến 1000,0 ml bằng cùng dung môi. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên ở bước sóng cực đại 351 nm. Tính hàm lượng $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P.C_2H_4O_2$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 187 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 351 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín và ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

HYDROXOCOBALAMIN CLORID

Hydroxocobalamin chloridum



$C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P.HCl$

P.t.l: 1383,0

Hydroxocobalamin clorid là $Co\alpha$ -[α -(5,6-dimethylbenzimidazolyl)]- $Co\beta$ hydroxocobalamid clorid, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hoặc tinh thể màu đỏ đậm, tan trong nước và rất hút ẩm. Có thể bị phân hủy khi sấy khô.

Định tính

A. Hòa tan 2,5 mg chế phẩm trong dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) acid acetic khan (TT) và 1,09 % natri acetat (TT) rồi pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại - khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên trong khoảng 260 nm đến 610 nm có ba đỉnh hấp thụ cực đại ở 274 nm, 351 nm và 525 nm. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 274 nm so với độ hấp thụ ở 351 nm từ 0,75 đến 0,83. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 525 nm so với độ hấp thụ ở 351 nm từ 0,31 đến 0,35.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 10 % - methanol (25 : 75).

Dung dịch thử: Hòa tan 2 mg chế phẩm trong 1 ml dung dịch đồng thể tích ethanol 96 % (TT) và nước.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 2 mg hydroxocobalamin clorid chuẩn trong 1 ml dung dịch đồng thể tích ethanol 96 % (TT) và nước.

Cách tiến hành: Tiến hành tránh ánh sáng.

Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình sắc ký không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 12 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan

Tiến hành sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), sử dụng các dung dịch mới pha và trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động gồm 19,5 thể tích *methanol* (TT) và 80,5 thể tích dung dịch có chứa 1,5 % *acid citric* (TT) và 0,81 % *dinatri hydrophosphat* (TT) trong nước.

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

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

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Hút 1,0 ml dung dịch này pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 10 ml nước, làm nóng nếu cần thiết. Để nguội và thêm 1 ml dung dịch *cloramin T* 2 % (TT), 0,5 ml dung dịch *acid hydrocloric* 0,05 M (TT), pha loãng thành 25 ml bằng nước. Lắc, để yên trong 5 phút và tiêm ngay.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4 mm) nhồi bằng pha tĩnh B (5 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 351 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành :

Tiêm riêng biệt mỗi dung dịch trên và tiếp tục chạy sắc ký trong khoảng thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Trong sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích của các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (5 %). Bỏ qua tất cả các pic mà diện tích của chúng nhỏ hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải có 3 pic chính và hệ số phân giải giữa hai pic gần nhau ít nhất là 3,0; sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 1 pic chính và tỷ số tín hiệu của pic này so với độ nhiễu đường nền ít nhất là 5.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 8,0 đến 12,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,400 g; 100 °C đến 105 °C; áp suất không quá 0,7 kPa).

Định lượng

Cần tránh ánh sáng trong quá trình định lượng.

Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) *acid acetic khan* (TT) và 1,09 % *natri acetat* (TT) rồi pha loãng đến 1000,0 ml bằng cùng dung môi. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 3.1) của dung dịch

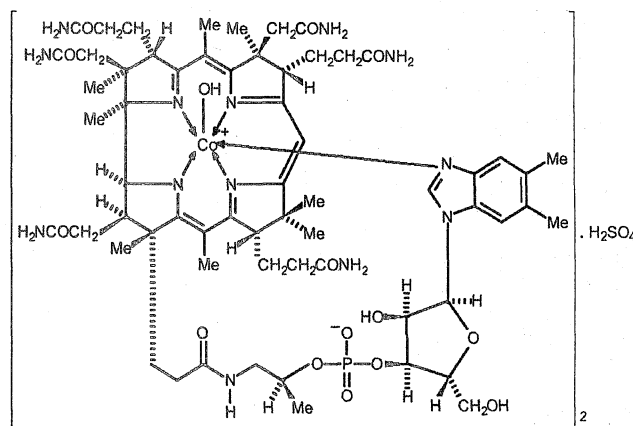
trên ở bước sóng cực đại 351 nm. Tính hàm lượng $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P.HCl$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 190 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 351 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

HYDROXOCOBALAMIN SULFAT

Hydroxocobalamini sulfas



$C_{124}H_{178}Co_2N_{26}O_{30}P_2.H_2SO_4$

P.t.l: 2791,0

Hydroxocobalamin sulfat là di - (Coα-[α-(5,6-dimethylbenzimidazolyl)]-Coβ hydroxocobalamid) sulfat, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{124}H_{178}Co_2N_{26}O_{30}P_2.H_2SO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hoặc tinh thể màu đỏ đậm, tan trong nước và rất hút ẩm. Có thể bị phân hủy khi sấy khô.

Định tính

A. Hòa tan 2,5 mg chế phẩm trong dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) *acid acetic khan* (TT) và 1,09 % *natri acetat* (TT) rồi pha loãng đến 100 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại - khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên trong khoảng 260 nm đến 610 nm có ba hấp thụ cực đại ở 274 nm, 351 nm và 525 nm. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 274 nm so với độ hấp thụ ở 351 nm từ 0,75 đến 0,83. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 525 nm so với độ hấp thụ ở 351 nm từ 0,31 đến 0,35.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: Dung dịch *amoniac* 10 % - *methanol* (25 : 75).

Dung dịch thử: Hòa tan 2 mg chế phẩm trong 1 ml dung dịch đồng thể tích *ethanol* 96 % (TT) và nước.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 2 mg hydroxocobalamin sulfat chuẩn trong 1 ml dung dịch đồng thể tích *ethanol* 96 % (TT) và nước.

Cách tiến hành: Tiến hành tránh ánh sáng.

Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình sắc ký không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 12 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan

Tiến hành sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), sử dụng các dung dịch mới pha và trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động gồm 19,5 thể tích *methanol* (TT) và 80,5 thể tích dung dịch có chứa 1,5 % *acid citric* (TT) và 0,81 % *dinatri hydrophosphat* (TT) trong nước.

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

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

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Hút 1,0 ml dung dịch này pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 10 ml nước, làm nóng nếu cần thiết. Để nguội và thêm 1 ml dung dịch *cloramin T* 2 % (TT), 0,5 ml dung dịch *acid hydrochloric* 0,05 M (TT). Pha loãng thành 25 ml bằng nước. Lắc, để yên trong 5 phút và tiêm ngay.

Điều kiện sắc ký :

Cột thép không gỉ (0,25 m $\times$ 4 mm) nhồi bằng pha tĩnh B (5 μ m).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 351 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành :

Tiêm riêng biệt mỗi dung dịch trên và tiếp tục chạy sắc ký trong khoảng thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Trong sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích của các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (5 %). Bỏ qua tất cả các pic mà diện tích của chúng nhỏ hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải có 3 pic chính và hệ số phân giải giữa hai pic gần nhau ít nhất là 3,0; sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 1 pic chính và tỷ số tín hiệu của pic này so với độ nhiễu đường nền ít nhất là 5.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 8,0 % đến 16,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,400 g; 100 °C đến 105 °C; áp suất không quá 0,7 kPa).

Định lượng

Cần phải tránh ánh sáng trong quá trình định lượng.

Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) *acid acetic khan* (TT) và 1,09 % *natri acetat* (TT) rồi pha loãng đến 1000,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên ở bước sóng cực đại 351 nm. Tính hàm lượng $C_{124}H_{178}Co_2N_{26}O_{30}P_2.H_2SO_4$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 188 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 351 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

THUỐC TIÊM HYDROXOCOBALAMIN

Injectio Hydroxocobalamin

Là dung dịch vô khuẩn của hydroxocobalamin acetat, hydroxocobalamin clorid hay hydroxocobalamin sulfat trong nước để pha thuốc tiêm có chứa acid acetic, acid hydrochloric hay acid sulfuric đủ để chỉnh pH khoảng 4,0.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng hydroxocobalamin, $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P$, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn của hydroxocobalamin khan.

Tính chất

Dung dịch trong, màu đỏ.

Định tính

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử ở phần định lượng tại bước sóng 351 nm và 361 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở 361 nm và 351 nm là khoảng 0,65.

pH

3,8 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol* - dung dịch chứa 1,5 % *acid citric* và 0,81 % *dinatri hydrophosphat* (19,5 : 80,5).

Các dung dịch dưới đây phải được tiêm ngay sau khi pha và phải được tránh ánh sáng.

Dung dịch thử: Pha loãng chính xác một thể tích chế phẩm trong pha động để được dung dịch có nồng độ hydroxocobalamin là 0,10 %.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng dung dịch thử trong pha động để được dung dịch có nồng độ hydroxocobalamin là 0,005 %.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng dung dịch đối chiếu (1) trong pha động để được dung dịch có nồng độ hydroxocobalamin là 0,0001 %.

Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng muối hydroxocobalamin chuẩn tương ứng với 5 mg hydroxocobalamin trong nước, thêm 0,2 ml dung dịch *cloramin T* 2 % (TT) mới pha và 0,1 ml dung dịch *acid hydrochloric* 0,05 M (TT). Pha loãng thành 10 ml bằng nước. Lắc và để yên 5 phút, rồi tiêm ngay.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm), được nhồi pha tinh B (5 μm) (Cột Lichrosorb 100 CH8/11 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 351 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải có 3 pic chính và hệ số phân giải giữa các cặp pic liền kề phải không được nhỏ hơn 3,0, sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 1 pic chính và tỷ số tín hiệu trên nhiễu không nhỏ hơn 5.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích của các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (10 %). Bỏ qua tất cả các pic mà diện tích của chúng nhỏ hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Định lượng

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng

Hút chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với 2,5 mg hydroxocobalamin khan vào bình định mức 100 ml, pha loãng đến định mức bằng dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) *acid acetic băng* và 1,09 % *natri acetat*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 351 nm.

Tính hàm lượng hydroxocobalamin, $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P$, trong chế phẩm theo A (1 %, 1 cm). Lấy 195 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 351 nm.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Thuốc tạo máu.

Hàm lượng thường dùng

Ổng tiêm 1 mg/ml, 1 mg/4ml, 500 μg/ml, 2 μg/ml.

HYDROXYETHYLCELULOSE

Hydroxyethylcellulosum

Hydroxyethylcellulose là cellulose được O-(2-hydroxyethyl) hóa một phần.

Tính chất

Hạt hay bột trắng, trắng ngà hay trắng xám. Tan trong nước nóng và nước lạnh tạo dung dịch keo, thực tế không tan trong aceton, ethanol 96 % và toluen.

Định tính

Dung dịch S: Phân tán một lượng chế phẩm tương đương 1,0 g chế phẩm đã làm khô trong 50 ml nước không có carbon dioxyl (TT). Sau 10 phút, pha loãng đến 100 ml với nước không có carbon dioxyl (TT) và khuấy cho đến khi tan hoàn toàn.

A. Đun 10 ml dung dịch S đến sôi, dung dịch vẫn phải trong.

B. Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,3 ml dung dịch *acid acetic loãng* (TT) và 2,5 ml dung dịch *acid tannic* 10 %. Xuất hiện tủa bông màu trắng ngà, tủa này tan trong dung dịch *amoniac loãng* (TT).

C. Trong ống nghiệm có chiều dài khoảng 160 mm, trộn đều 1 g chế phẩm với 2 g bột mịn *mangan sulfat* (TT). Đặt mẫu giấy lọc đã được tẩm hỗn hợp mới pha gồm 1 thể tích dung dịch *diethanolamin* 20 % và 11 thể tích dung dịch *natri nitroprusiat* 5 % (TT) đã được điều chỉnh pH đến khoảng 9,8 bằng dung dịch *acid hydrochloric* 1 M (TT) vào phần trên của ống nghiệm sâu khoảng 2 cm. Đun cách dầu silicon ống nghiệm sao cho phần ngập trong dầu khoảng 8 cm ở nhiệt độ 190 °C đến 200 °C. Giấy lọc có màu xanh dương trong vòng 10 phút. Tiến hành song song mẫu trắng trong cùng điều kiện.

D. Hòa tan hoàn toàn 0,2 g chế phẩm, không đun nóng, trong 15 ml dung dịch *acid sulfuric* 70 % (kl/kl). Vừa đổ dung dịch vào 100 ml nước đá vừa khuấy đều, pha loãng đến 250 ml với nước đá. Lấy 1 ml dung dịch trên cho vào ống nghiệm, làm lạnh ống nghiệm trong nước đá, thêm bằng cách nhỏ giọt 8 ml *acid sulfuric* (TT). Đun trên cách thủy chính xác trong 3 phút, sau đó làm lạnh trong nước đá ngay lập tức. Khi hỗn hợp lạnh, thêm cẩn thận 0,6 ml dung dịch *ninhydrin* (TT₂), trộn đều. Để yên ở 25 °C. Màu hồng xuất hiện ngay lập tức và không chuyển thành màu tím trong vòng 100 phút.

Độ trong và màu sắc dung dịch

Dung dịch S không đục hơn hỗn dịch đối chiếu III (Phụ lục 9.2) và không đậm màu hơn màu mẫu V₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S là từ 5,5 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).

Độ nhớt biểu kiến

75 % đến 140 % giá trị ghi trên nhãn (Phụ lục 6.3).

Vừa khuấy, vừa thêm một lượng tương đương với 2,00 g chế phẩm đã làm khô vào 50 g nước. Pha loãng đến 100,0 g với nước, khuấy đến khi tan hoàn toàn. Xác định độ nhớt bằng nhớt kế quay ở 25 °C và vận tốc cắt 100 s⁻¹ với các chế phẩm có độ nhớt dự đoán nhỏ hơn 100 mPa.s, 10 s⁻¹ với các chế phẩm có độ nhớt dự đoán khoảng (100 - 20000) mPa.s và 1 s⁻¹ với các chế phẩm có độ nhớt dự đoán trên 20 000 mPa.s. Nếu không đạt được vận tốc cắt chính xác 1 s⁻¹, 10 s⁻¹, 100 s⁻¹ thì nên dùng 1 tốc độ hơi lớn hơn, 1 tốc độ hơi nhỏ hơn và 1 tốc độ trung gian.

Clorid

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 1 ml dung dịch S pha loãng đến 30 ml với nước.

Lấy 15 ml dung dịch trên và tiến hành thử.

Nitrat

Nếu hydroxyethylcellulose có độ nhớt biểu kiến không quá 1000 mPa.s, tiến hành theo phương pháp A.

Nếu hydroxyethylcellulose có độ nhớt biểu kiến vượt quá 1000 mPa.s, tiến hành theo phương pháp B.

Phương pháp A - Không được quá 3,0 %

Lấy 5 ml dung dịch S pha loãng thành 10 ml với nước.

Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 19 ml nước, 2 ml dung dịch amoniac đậm đặc (TT), 0,5 ml dung dịch mangan sulfat 1 % và 1 ml dung dịch sulfanilamid 1 %.

Thêm 0,1 g kẽm hạt (TT), để yên 30 phút trong nước đá, thỉnh thoảng lắc nhẹ. Lọc qua phễu lọc thủy tinh xốp 40.

Lấy 10 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, acid hóa bằng 2,5 ml acid hydrocloric (TT), thêm 0,5 ml dung dịch naphthylethylenediamin dihydroclorid 1 %.

Để yên 15 phút. Bất cứ màu đỏ tím nào xuất hiện không được đậm màu hơn mẫu đối chiếu được tiến hành đồng thời trong cùng điều kiện dùng hỗn hợp chứa 15 ml dung dịch nitrat mẫu 10 phần triệu (TT) và 5 ml nước.

Phương pháp B - Không được quá 0,2 %

Lấy 5 ml dung dịch S pha loãng thành 10 ml với nước.

Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 19 ml nước, 2 ml dung dịch amoniac đậm đặc (TT), 0,5 ml dung dịch mangan sulfat 1 % và 1 ml dung dịch sulfanilamid 1 %.

Thêm 0,1 g kẽm hạt (TT), để yên 30 phút trong nước lạnh, thỉnh thoảng lắc nhẹ. Lọc qua phễu lọc thủy tinh xốp 40.

Lấy 10 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, acid hóa bằng 2,5 ml acid hydrocloric (TT), thêm 0,5 ml dung dịch naphthylethylenediamin dihydroclorid 1 %.

Để yên 15 phút. Bất cứ màu đỏ tím nào xuất hiện không được đậm màu hơn mẫu đối chiếu được tiến hành đồng thời trong cùng điều kiện dùng hỗn hợp chứa 1 ml dung dịch nitrat mẫu 10 phần triệu (TT) và 19 ml nước.

Kim loại nặng

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

Lấy 1 g chế phẩm thử theo phương pháp 3.

Dùng 2 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Glyoxal

Không được quá 200 phần triệu.

Lấy 1,0 g chế phẩm cho vào ống nghiệm có nút mài, thêm 10,0 ml ethanol (TT). Đậy ống nghiệm và lắc cơ học 30 phút. Ly tâm. Lấy 2,0 ml dung dịch phía trên, thêm 5,0 ml dung dịch methylbenzothiazolon hydrazon hydroclorid 0,4 % trong dung dịch acid acetic băng 80 % (tt/tt). Lắc cho đến khi đồng nhất.

Sau 2 giờ, dung dịch không được đậm màu hơn mẫu đối chiếu được tiến hành đồng thời trong cùng điều kiện dùng 2 ml dung dịch glyoxal mẫu 20 phần triệu thay vì 2 ml dung dịch thử.

Ethylen oxyd

Không được quá 1 phần triệu.

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký khí tiêm pha hơi (kiểu head-space, Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Lấy 1,00 g (M_T) chế phẩm cho vào lọ thủy tinh 5 ml, thêm vào 1 ml nước. Chế phẩm không tan mà trương nở trong nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Lấy 1,00 g (M_R) chế phẩm cho vào lọ thủy tinh 5 ml. Thêm 0,2 ml (tương đương 225 mg) dung dịch ethylen oxyd (TT₂) lạnh và 0,8 ml nước. Chế phẩm không tan mà trương nở trong nước.

Dung dịch đối chiếu (2): Thêm 0,1 ml dung dịch acetaldehyd 10 mg/l mới pha vào lọ thủy tinh 5 ml có chứa 0,1 ml dung dịch ethylen oxyd (TT₂).

Đậy nắp các lọ thủy tinh ngay lập tức với nút có màng cao su butyl, bọc nhôm hoặc polytetrafluoroethylen và giữ chặt bằng nắp nhôm

Điều kiện tiêm head-space:

Nhiệt độ cân bằng: 70 °C

Thời gian cân bằng: 45 min

Nhiệt độ chuyển dòng: 75 °C

Khí mang: Heli hay nitrogen cho sắc ký khí

Thời gian nén khí: 30 s

Thể tích tiêm: 1 ml

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh hoặc cột tráng silica nung chảy có chiều dài 30 m, đường kính trong 0,32 mm, mặt trong được tráng lớp poly(dimethyl) siloxan (TT) dày 1,0 µm.

Khí mang: Heli hoặc nitrogen dùng cho sắc ký. Vận tốc tuyến tính 20 cm/s và tỷ lệ chia dòng 1 : 20.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ: Nhiệt độ cột được giữ ở 50 °C trong 5 phút, sau đó được gia tăng với tốc độ 30 °C/min đến khi đạt 230 °C và giữ trong 5 phút. Nhiệt độ buồng tiêm 150 °C và nhiệt độ detector 250 °C.

Cách tiến hành:

Tiêm 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) đã được hóa hơi.

Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao 2 pic chính trên sắc ký đồ không thấp hơn 15 % thang đo của bộ phận ghi nhận. Phép thử chỉ có giá trị nếu độ phân giải giữa pic của acetaldehyd và ethylen oxyd ít nhất là 3,5.

Tiêm riêng biệt 1,0 ml dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) đã được hóa hơi. Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích pic ứng với ethylen oxyd không được lớn hơn một nửa diện tích pic ứng với ethylen oxyd trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1).

Hàm lượng ethylen oxyd tính theo phần triệu được tính bằng công thức sau:

$$\frac{(A_T \times M_{EO} \times C)}{0,25(A_R \times M_T - A_T \times M_R)}$$

$$C = \frac{C_{EO}}{(M_{EO} \times 10)}$$

Trong đó:

A_T là diện tích pic ứng với ethylen oxyd trên sắc ký đồ của dung dịch thử;

A_R là diện tích pic ứng với ethylen oxyd trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1);

M_{EO} là khối lượng ethylen oxyd (g) hấp thu (dùng để chuẩn bị dung dịch ethylen oxyd chuẩn);

M_T là khối lượng chế phẩm (g) trong dung dịch thử;

M_R là khối lượng chế phẩm (g) trong dung dịch đối chiếu;

C là hệ số sửa đổi được xác định từ công thức hiệu chỉnh;

C_{EO} là nồng độ ethylen oxyd (mg/ml) được xác định bằng cách chuẩn độ.

2-Cloroethanol

Không được quá 10 phần triệu.

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký khí tiêm pha hơi (head-space, Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Cân 50 mg (M_T) chế phẩm cho vào lọ thủy tinh 20 ml. Thêm 2 μ l 2-propanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Cân 50 mg (M_R) chế phẩm cho vào lọ thủy tinh 20 ml. Thêm 2 μ l 2-cloroethanol (TT).

Đậy nắp các lọ ngay lập tức với nút có màng cao su butyl, bọc nhôm hoặc polytetrafluoroethylen và giữ chặt bằng nắp nhôm.

Điều kiện tiêm pha hơi có thể dùng bình được cung cấp khí helium dùng cho sắc ký khí với tốc độ 20 ml/phút. Các lọ thủy tinh được làm nóng đến 110 °C trong 40 phút. Thời gian tiêm là 5 phút. Dòng khí chiết được chuyển vào bình có chứa ống (13,6 cm $\times$ 4 mm) được bao bằng ethylvinylbenzen-divinylbenzen copolymer (150 μ m) giữ ở 50 °C.

Đun nóng nhanh bình đến 210 °C, cung cấp heli với tốc độ 5 ml/phút, đẩy khí về phía cột phân tích.

Điều kiện sắc ký:

Cột: Silica nung chảy (30 m $\times$ 0,53 mm), mặt trong được phủ lớp macrogol 20 000 dùng cho sắc ký, dày 1 μ m.

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký khí, vận tốc tuyến tính 60 cm/s.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ: Giữ nhiệt độ cột ở 60 °C trong 6 phút, tăng nhiệt với tốc độ 5 °C/min đến 110 °C, sau đó tăng nhiệt độ với tốc độ 8 °C/min đến 230 °C và giữ ở 230 °C trong 5 phút. Nhiệt độ buồng tiêm 150 °C, nhiệt độ detector 260 °C.

Cách tiến hành:

Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Ghi lại sắc ký đồ.

Hàm lượng 2-cloroethanol tính theo phần triệu được tính bằng công thức:

$$\frac{A_T \times C}{(A_R \times M_T) - (A_T \times M_R)}$$

Trong đó:

A_T là diện tích pic ứng với 2-cloroethanol trên sắc ký đồ của dung dịch thử;

A_R là diện tích pic ứng với 2-cloroethanol trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu;

M_T là khối lượng chế phẩm (g) trong dung dịch thử;

M_R là khối lượng chế phẩm (g) trong dung dịch đối chiếu;

C là hàm lượng 2-cloroethanol (μ g) trong 2,0 μ l dung dịch 2-cloroethanol chuẩn.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 10,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 100 °C đến 105 °C, 3 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nhãn

Trên nhãn quy định độ nhớt biểu kiến tính theo milipascal-giây cho dung dịch 2 % (kl/kl).

Công dụng

Tá dược.

Bảo quản

Đề trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

HYDROXYETHYLMETHYLCELULOSE

Hydroxyethylmethylcellulosum

Hydroxyethylmethylcellulose là cellulose được O-methyl hóa và O-(2-hydroxyethyl) hóa từng phần.

Tính chất

Hạt hay bột trắng, trắng hơi vàng hoặc trắng xám, dễ hút ẩm sau khi sấy khô. Thực tế không tan trong nước nóng, acetone, ethanol, ether, toluen. Tan trong nước lạnh tạo dung dịch keo.

Định tính

Dung dịch S: Vừa khuấy vừa cho một lượng bột tương đương với 1,0 g chế phẩm đã làm khô, cho vào 50 g nước không có carbon dioxyl (TT) đã được đun nóng đến 90 °C. Để nguội, thêm nước không có carbon dioxyl (TT) đến 100 g và khuấy cho đến khi tan hoàn toàn

A. Vừa khuấy vừa đun trong cách thủy 10 ml dung dịch S. Ở nhiệt độ trên 50 °C, dung dịch đục hoặc xuất hiện tủa bông. Dung dịch trong trở lại khi làm lạnh.

B. Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,3 ml *dung dịch acid acetic loãng (TT)* và 2,5 ml *dung dịch acid tanic 10 % (TT)*. Xuất hiện tủa bông màu trắng vàng, tủa này tan trong amoniac loãng.

C. Trộn đều 1 g chế phẩm với 2 g bột mịn *mangan sulfat (TT)* trong ống nghiệm dài 160 mm. Đặt mẫu giấy lọc được tẩm hỗn hợp vừa được chuẩn bị gồm 1 thể tích *dung dịch diethanolamin 20 % (tt/tt)* và 11 thể tích *dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT)* đã được điều chỉnh pH đến khoảng 9,8 bằng *dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT)* vào phần trên của ống nghiệm sâu khoảng 2 cm. Đun cách dầu silicon ở 190 °C đến 200 °C sao cho ống nghiệm ngập trong dầu khoảng 8 cm. Giấy lọc phải có màu xanh trong vòng 10 phút. Song song tiến hành mẫu trắng.

D. Hòa tan hoàn toàn 0,2 g chế phẩm (không đun nóng) trong 15 ml *dung dịch acid sulfuric 70 % (kl/kl)* vừa đổ dung dịch vừa khuấy đều, vào 100 ml *nước đá* và pha loãng đến 250 ml với *nước đá*. Lấy 1 ml dung dịch trên cho vào ống nghiệm, làm lạnh trong nước đá và thêm 8 ml *acid sulfuric (TT)* bằng cách nhỏ giọt. Đun trong cách thủy chính xác trong 3 phút, sau đó làm lạnh ngay trong nước đá. Khi hỗn hợp lạnh, thêm từ từ 0,6 ml *dung dịch ninhydrin (TT)*, trộn đều. Để yên ở 25 °C xuất hiện ngay màu hồng và không chuyển sang tím trong vòng 100 phút.

E. Trải 1 ml dung dịch S lên mặt kính. Sau khi bốc hơi nước, một lớp film được tạo thành trên mặt kính.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu III (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn mẫu V₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S phải từ 5,5 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Độ nhớt biểu kiến

75 % đến 140 % giá trị ghi trên nhãn (Phụ lục 6.3).

Vừa khuấy vừa cho một lượng bột tương ứng với 6,0 g chế phẩm đã làm khô vào 150 g nước đã được làm nóng đến 90 °C. Khuấy bằng máy khuấy chân vịt 10 phút làm lạnh trong nước đá và tiếp tục khuấy trong 40 phút để hòa tan hoàn toàn. Điều chỉnh khối lượng đến 300 g, ly tâm dung dịch để đuổi hết khí. Điều chỉnh nhiệt độ dung dịch khoảng (20 ± 0,1) °C. Xác định độ nhớt bằng nhớt kế quay ở 20 °C và vận tốc cắt 10 s⁻¹.

Clorid

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 1 ml dung dịch S, pha loãng đến 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu. (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 10 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm đã làm khô.

Bảo quản

Đề trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Nhãn

Trên nhãn qui định độ nhớt tính theo milipascal - giây của dung dịch 2 % (kl/kl).

Loại thuốc

Tá dược.

HYDROXYPROPYLCELULOSE

Hydroxypropylcellulosum

Hydroxypropylcellulose là cellulose được O-(2-hydroxypropyl) hóa một phần. Chứa không quá 0,6 % silic (SiO₂).

Tính chất

Hạt hay bột màu trắng hay trắng ngà. Sau khi sấy dễ hút ẩm. Tan trong nước lạnh, acid acetic băng, ethanol, methanol, propylen glycol, hỗn hợp chứa methanol và methylen clorid (10 : 90) tạo dung dịch keo. Tan ít hay hơi tan trong aceton tùy theo mức độ thế, thực tế không tan trong nước nóng, trong ethylen glycol và toluen.

Định tính

Dung dịch S: Cân lượng bột tương đương 1,0 g chế phẩm đã làm khô cho vào 50 g *nước không có carbon dioxyd (TT)* đã được đun nóng đến 90 °C. Để nguội, điều chỉnh đến khối lượng 100 g bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*, khuấy đến khi tan hoàn toàn.

A. Vừa khuấy vừa đun trong cách thủy 10,0 ml dung dịch S. Ở nhiệt độ trên 40 °C, dung dịch đục hoặc xuất hiện tủa bông. Dung dịch trong trở lại khi làm lạnh.

B. Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,3 ml *dung dịch acid acetic loãng (TT)* và 2,5 ml *dung dịch acid tanic 10 %*. Xuất hiện tủa bông màu trắng hơi vàng, tủa này tan trong *dung dịch amoniac loãng (TT)*.

C. Trộn đều 1,0 g chế phẩm với 2 g bột mịn *mangan sulfat (TT)* trong ống nghiệm dài 160 mm. Đặt mẫu giấy lọc được tẩm hỗn hợp vừa được chuẩn bị gồm 1 thể tích *dung dịch diethanolamin 20 % (tt/tt)* và 11 thể tích *dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT)* và đã được

điều chỉnh pH đến khoảng 9,8 bằng *dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT)* vào phần trên của ống nghiệm sâu khoảng 2 cm. Đun cách dầu silicon ở 190 °C đến 200 °C sao cho ống nghiệm ngập trong dầu khoảng 8 cm. Giấy lọc phải có màu xanh trong vòng 10 phút. Song song tiến hành mẫu trắng.

D. Hòa tan hoàn toàn 0,2 g chế phẩm (không đun nóng) trong 15 ml *dung dịch acid sulfuric 70 % (kl/kl)*. Vừa khuấy vừa đổ *dung dịch* vào 100 ml *nước đá* và pha loãng đến 250 ml với *nước đá*. Lấy 1 ml *dung dịch* trên cho vào ống nghiệm, làm lạnh trong *nước đá* và thêm 8 ml *acid sulfuric (TT)* bằng cách nhỏ giọt. Đun trong cách thủy chính xác trong 3 phút, sau đó làm lạnh ngay trong *nước đá*. Khi hỗn hợp lạnh, thêm từ từ 0,6 ml *dung dịch ninhydrin (TT)*, trộn đều để yên ở 25 °C. Xuất hiện ngay màu hồng và không chuyển sang tím trong vòng 100 phút.

E. Trải 1 ml *dung dịch S* lên mặt kính. Sau khi bốc hơi nước, một lớp phim được tạo thành trên mặt kính.

F. 0,2 g chế phẩm không tan trong 10 ml *toluen (TT)* nhưng tan hoàn toàn trong 10 ml *ethanol (TT)*.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu III (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của *dung dịch S* phải từ 5,0 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).

Độ nhớt biểu kiến

75 % đến 140 % giá trị ghi trên nhãn (Phụ lục 6.3).

Vừa khuấy vừa cho một lượng bột tương ứng với 6,0 g chế phẩm đã được làm khô cho vào 150 g *nước* đã được làm nóng đến 90 °C. Khuấy bằng máy khuấy chân vịt trong 10 phút làm lạnh trong *nước đá* và tiếp tục khuấy trong 40 phút để hòa tan hoàn toàn. Điều chỉnh khối lượng đến 300 g, ly tâm *dung dịch* để đuổi hết khí. Điều chỉnh nhiệt độ *dung dịch* khoảng $(20 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$. Xác định độ nhớt bằng nhớt kế quay ở 20 °C và vận tốc cắt 10 s^{-1} .

Với chế phẩm có độ nhớt thấp, dùng lượng chế phẩm đủ để chuẩn bị *dung dịch* có nồng độ qui định trên nhãn.

Clorid

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 1 ml *dung dịch S*, pha loãng đến 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 7,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,00 g, 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 1,6 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2). Dùng 1,0 g và chén platin.

Silica

Không được quá 0,6 %.

Thêm một lượng vừa đủ *ethanol 96 % (TT)* vào cân thu được ở mục Tro sulfat để thấm ướt cân hoàn toàn. Thêm từng lượng nhỏ 6 ml *acid hydrofluoric*. Bốc hơi đến khô ở nhiệt độ 95 °C đến 105 °C, tiến hành cẩn thận để tránh mất mẫu. Làm lạnh và tráng thành chén platin bằng 6 ml *acid hydrofluoric*. Thêm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)* và bốc hơi đến khô. Nâng dần nhiệt độ và nung ở 900 °C. Để nguội trong bình hút ẩm và cân. Lượng silica trong chế phẩm được tính bằng cách lấy lượng cân thu được trong mục Tro sulfat trừ đi lượng cân thu được.

Bảo quản

Để trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Nhãn

Trên nhãn qui định độ nhớt tính theo milipascal giây của *dung dịch* 2 % (kl/kl).

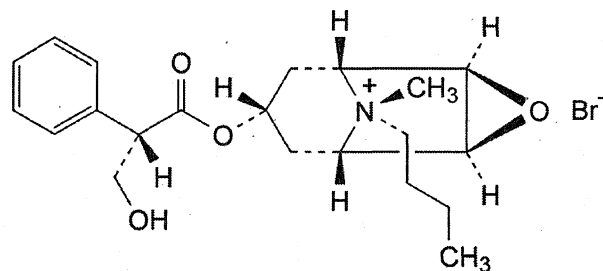
Đối với chế phẩm có độ nhớt thấp phải qui định nồng độ *dung dịch* được dùng để xác định độ nhớt tính theo milipascal giây. Nếu cần, nhãn phải ghi sản phẩm chứa silica.

Loại thuốc

Tá dược.

HYOSCIN BUTYLBROMID

Hyoscini butylbromidum



$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{BrNO}_4$

P.t.l: 440,4

Hyoscin butylbromid (scopolamin butylbromid) là (1*R*,2*R*,4*S*,5*S*,7*S*,9*r*)-9-butyl-7-[[[(2*S*)-3-hydroxy-2-phenylpropanoyl]oxy]-9-methyl-3-oxa-9-azoniatricyclo-[3.3.1.0^{2,4}]nonan bromid, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{BrNO}_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước và trong methylen clorid, hơi tan trong ethanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C, F.

Nhóm II: A, B, D, E, F.

A. Đáp ứng phép thử góc quay cực riêng.

B. Điểm chảy (Phụ lục 6.7): 139 °C đến 141 °C.

C. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của hyoscin butylbromid chuẩn.

D. Lấy khoảng 1 mg chế phẩm, thêm 0,2 ml *acid nitric* (TT) và bốc hơi tới khô trên cách thủy. Hòa tan cẩn trọng 2 ml *aceton* (TT) và thêm 0,1 ml *dung dịch kali hydroxyd 3,0 % trong methanol*. Màu tím xuất hiện.

E. Thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng* (TT) vào 5 ml dung dịch S. Không có tủa tạo thành.

F. Chế phẩm cho phản ứng A của ion bromid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxid* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S từ 5,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ -18° đến -20° (Phụ lục 6.4)

Xác định trên dung dịch S (tính theo chế phẩm đã làm khô).

Hyoscin và các tạp chất liên quan khác

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 2,0 g *natri lauryl sulfat* (TT) trong hỗn hợp 370 ml *acid hydrocloric 0,001 M* (TT) và 680 ml *methanol* (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg hyoscin hydrobromid chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Lấy 10 ml dung dịch đối chiếu (1), thêm 20 µl dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi trong sắc ký đồ thu được của dung dịch phân giải có

độ phân giải giữa 2 pic tương ứng với hyoscin và butyl hyoscin ít nhất là 5.

Tiêm riêng biệt các dung dịch trên. Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic chính. Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử: diện tích của pic tương ứng với hyoscin không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %) và diện tích của bất kỳ pic nào ngoài pic chính và pic tương ứng với hyoscin, không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %). Bỏ qua pic bromid xuất hiện gần pic dung môi.

Mất khối lượng do làm khô

Không quá 2,5 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g, 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không quá 0,1 % (Phụ lục 9.9).
Dùng 0,5 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 50 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 M* (CD). Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Dùng điện cực bạc làm điện cực chỉ thị, điện cực bạc - bạc clorid làm điện cực so sánh.

1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M* (CD) tương đương với 44,04 mg C₂₁H₃₀BrNO₄.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

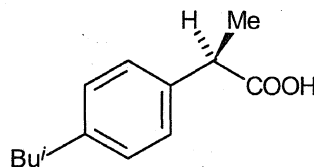
Thuốc chống co thắt.

Chế phẩm

Viên nén. Thuốc tiêm.

IBUPROFEN

Ibuprofenum



C₁₃H₁₈O₂

P.t.l: 206,3

Ibuprofen là acid (RS)-2-(4-isobutylphenyl) propionic, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % C₁₃H₁₈O₂, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay tinh thể không màu. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton, dicloro-methan, methanol và ether. Tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng và carbonat kiềm.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ibuprofen chuẩn.

B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm 0,05 % trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* có hai cực đại hấp thụ ở 264 nm và 272 nm và một vai ở 258 nm. Tỷ số độ hấp thụ ở 264 nm và ở vai 258 nm từ 1,20 đến 1,30; tỷ số độ hấp thụ ở 272 nm và ở vai 258 nm từ 1,00 đến 1,10.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel H.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethylacetat - acid acetic khan (75 : 25 : 5).

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm 0,5 % trong dicloromethan (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ibuprofen chuẩn 0,5 % trong dicloromethan (TT).

Cách tiến hành:

Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, sấy khô ở 120 °C trong 30 phút. Phun lên bản mỏng *dung dịch kali permanganat 1,0 % trong dung dịch acid sulfuric 1 M* và sấy ở 120 °C trong 20 phút. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

D. Điểm chảy: 75 °C đến 78 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Góc quay cực (Phụ lục 6.4) của dung dịch này phải từ -0,05° đến +0,05°.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S, tiến hành thử theo phương pháp 2. Dùng dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu được chuẩn bị bằng cách pha loãng *dung dịch chỉ mẫu 100 phần triệu (TT)* với *methanol (TT)*, để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Tiến hành theo phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat - acid acetic khan (15 : 5 : 1).

Dung dịch thử: 100 mg/ml cloroform (TT).

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng cloroform (TT).

Cách tiến hành:

Châm riêng biệt 5 μ l mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Sau khi triển khai xong sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và phun *dung dịch kali permanganat 1 % trong acid sulfuric loãng (TT)*, sấy bản mỏng ở nhiệt độ 120 °C trong khoảng 20 phút. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại khả kiến ở bước sóng 365 nm. Bất kỳ vết phụ nào xuất hiện trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; phosphor pentoxyd; áp suất giảm).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,450 g chế phẩm trong 50 ml *methanol (TT)*, chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD)*, dùng 0,4 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị. Song song tiến hành mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD)* tương đương với 20,63 mg $C_{13}H_{18}O_2$.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Thuốc chống viêm không steroid.

Chế phẩm

Viên nén, viên nang, kem dùng ngoài, viên đạn đặt trực tràng.

VIÊN NÉN IBUPROFEN**Tabellae Ibuprofeni**

Là viên nén bao phim chứa ibuprofen.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” mục “Viên bao” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ibuprofen, $C_{13}H_{18}O_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén bao phim có bề mặt nhẵn bóng, không nứt cạnh, không dính tay.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng khoảng 0,40 g ibuprofen với 15 ml *aceton* (TT), lọc và để bay hơi dịch lọc tự nhiên tới khô. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cần thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ibuprofen chuẩn.

B. Cần thu được ở trên, sau khi kết tinh lại với *ether dầu hòa* (TT) (có khoảng sôi từ 40 °C đến 60 °C), có nhiệt độ nóng chảy khoảng 75 °C đến 78 °C.

C. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ibuprofen trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 7,2* (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 60 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để có nồng độ thích hợp và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 221 nm.

Tính hàm lượng ibuprofen, $C_{13}H_{18}O_2$, đã hòa tan tính theo A (1 %, 1 cm). Lấy 449 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 221 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 85 % lượng ibuprofen so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 phút.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: *n*-Hexan - ethyl acetat - acid acetic băng (75 : 25 : 5).

Dung dịch thử: Chiết một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,250 g ibuprofen với *cloroform* (TT), chiết 3 lần, mỗi lần 10 ml *cloroform* (TT), bay hơi dịch chiết còn khoảng 1 ml, thêm *cloroform* (TT) cho vừa đủ 5 ml.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100 ml với *cloroform* (TT), lắc đều.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch acid phosphoric 0,01 M - acetonitril (60 : 40).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 100 mg ibuprofen chuẩn hòa tan trong pha động thành 50,0 ml, trộn đều.

Dung dịch thử: Cân 20 viên (đã được loại bỏ lớp bao, nếu cần) tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,2 g ibuprofen, thêm 60 ml pha động, lắc trong 20 phút, thêm pha động vừa đủ 100,0 ml và trộn đều. Lọc hoặc li tâm.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm hoặc 10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 224 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng ibuprofen, $C_{13}H_{18}O_2$, dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{13}H_{18}O_2$ trong ibuprofen chuẩn.

Bảo quản

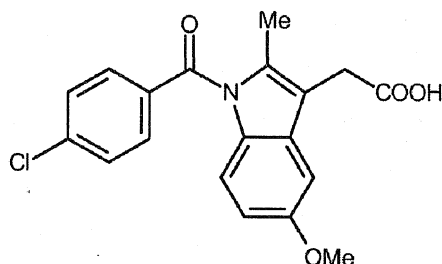
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng

200 mg; 400 mg; 600 mg.

INDOMETHACIN**Indomethacinum**

$C_{19}H_{16}ClNO_4$

P.t.l: 357,8

Indomethacin là acid 1-(4-clorobenzoyl)-5-methoxy-2-methylindol-3-yl acetic, phải chứa từ 98,5 % đến 100,5 % $C_{19}H_{16}ClNO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng đến vàng, không mùi hay hầu như không mùi.

Thực tế không tan trong nước, tan trong cloroform, hơi tan trong ethanol 96 % và ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của indomethacin chuẩn. Tiến hành đo mẫu thử và mẫu chuẩn trong trạng thái rắn không kết tinh lại.

B. Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm 0,0025 % trong hỗn hợp *dung dịch acid hydrochloric 1 M - methanol* (1 : 9), được đo trong khoảng bước sóng từ 300 nm đến 350 nm, cho một cực đại hấp thụ ở bước sóng 318 nm. A (1 %, 1 cm) ở cực đại từ 170 đến 190.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun nóng nhẹ nếu cần. Lấy 0,1 ml dung dịch này, thêm 2 ml dung dịch hỗn hợp mới pha gồm 1 thể tích *dung dịch hydroxylamin hydroclorid 25 % (TT)* và 3 thể tích *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Thêm 2 ml *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)* và 1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT)*, lắc đều, xuất hiện màu hồng tím.

D. Lấy 0,5 ml dung dịch được pha như mục C, thêm 0,5 ml *dung dịch dimethylamino benzaldehyd (TT₂)*, tua tạo thành nhưng tan khi lắc. Đun nóng trên cách thủy, xuất hiện màu xanh chàm. Tiếp tục đun 5 phút và làm lạnh trong nước đá 2 phút, xuất hiện tua và màu chuyển sang xanh xám nhạt. Thêm 3 ml *ethanol 96 % (TT)* thu được dung dịch trong và có màu hồng tím.

E. Điểm chảy: 158 °C đến 162 °C (Phụ lục 6.7).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Cân 2,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 4 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: được tráng bằng hỗn dịch *silica gel HF₂₅₄* trong *dung dịch natri dihydrophosphat 4,68 %*.

Dung môi khai triển: *Ether - ether dầu hỏa* (khoảng sôi 50 °C đến 70 °C) (70 : 30).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi, pha trước khi dùng.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 200 ml với *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử không được sẫm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 75 ml *aceton (TT)* cho dòng khí nitrogen sục qua dung dịch trên trong khoảng 15 phút để loại hết khí carbon dioxyd. Duy trì cố định dòng khí đi qua và tiến hành chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, dùng 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị. Song song làm mẫu trắng.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 35,78 mg $C_{19}H_{16}ClNO_4$.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống viêm không steroid.

Chế phẩm

Thuốc nang, thuốc tiêm

NANG INDOMETHACIN

Capsulae Indomethacini

Là nang cứng chứa indomethacin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nang” (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng indomethacin, $C_{19}H_{16}ClNO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng, không méo mó, bột thuốc bên trong màu đồng nhất.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng từ 300 nm đến 350 nm chỉ có một cực đại hấp thụ ở bước sóng khoảng 320 nm.

B. Lắc kỹ một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 25 mg indomethacin trong 2 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Xuất hiện màu vàng tươi, phai màu nhanh.

C. Trong phần Tạp chất liên quan, sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải có vết tương ứng về vị trí và màu sắc với vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat pH chuẩn 7,2 (TT)*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được với môi trường hòa tan nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 320 nm, dùng mẫu trắng là môi trường hòa tan.

Tính hàm lượng của indomethacin, $C_{19}H_{16}ClNO_4$, đã hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 196 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 320 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % lượng indomethacin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ether - acid acetic băng (100 : 3)

Dung dịch thử (1): Cân một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 0,1 g indomethacin, thêm 10 ml methanol (TT), lắc kỹ trong 5 phút, lọc.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml với methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch indomethacin chuẩn 0,1 % trong methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất cứ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Định lượng

Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều và nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg indomethacin, thêm 10 ml nước và để yên trong 10 phút, thỉnh thoảng lắc. Thêm 75 ml methanol (TT), lắc kỹ và pha loãng thành 100,0 ml với methanol (TT). Lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch này thành 100,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích methanol (TT) và đệm phosphat pH chuẩn 7,2 (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 320 nm, dùng mẫu trắng là hỗn hợp đồng thể tích methanol (TT) và đệm phosphat pH chuẩn 7,2 (TT).

Tính hàm lượng indomethacin, $C_{19}H_{16}ClNO_4$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 193 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 320 nm.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng

25 mg; 75 mg.

VIÊN NÉN INDOMETHACIN

Tabellae Indomethacini

Là viên nén bao phim chứa indomethacin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng indomethacin, $C_{19}H_{16}ClNO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén bao phim màu đồng nhất.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng từ 300 nm đến 350 nm chỉ có một cực đại hấp thụ ở bước sóng khoảng 320 nm.

B. Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với 25 mg indomethacin trong 2 ml nước, thêm 2 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT). Xuất hiện màu vàng tươi, phai màu nhanh.

C. Trong phần Tạp chất liên quan, sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải có vết tương ứng về vị trí và màu sắc với vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2).

Tạp chất liên quan

Phải đáp ứng yêu cầu và tiến hành thử như mô tả trong phần Tạp chất liên quan của chuyên luận "Nang indomethacin". Dùng bột viên đã loại bỏ vỏ bao thay cho bột thuốc trong nang.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Phải đáp ứng yêu cầu và tiến hành thử như mô tả trong phần Độ hòa tan của chuyên luận "Nang indomethacin".

Định lượng

Cân 20 viên đã loại bỏ vỏ bao, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg indomethacin vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml nước, để yên trong 10 phút, thỉnh thoảng lắc. Thêm 75 ml methanol (TT), lắc kỹ rồi thêm methanol (TT) đến định mức và lắc đều, lọc, bỏ khoảng 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thu được thành 100,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích methanol (TT) và đệm phosphat pH chuẩn 7,2 (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 320 nm, dùng mẫu trắng là hỗn hợp đồng thể tích methanol (TT) và đệm phosphat pH chuẩn 7,2 (TT).

Tính hàm lượng indomethacin, $C_{19}H_{16}ClNO_4$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 193 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 320 nm.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng

25 mg.

IOD***Iodum***

I_2

P.t.l: 253,8

Iod phải chứa từ 99,5 % đến 100,5 % I.

Tính chất

Phiến nhỏ hoặc tinh thể mịn, màu tím đen, có ánh kim loại, mùi kích ứng đặc biệt. Dễ bay hơi ở nhiệt độ thường.

Rất khó tan trong nước, tan trong ethanol 96 %, cloroform, khó tan trong glycerin, dễ tan trong các dung dịch muối iodid.

Định tính

A. Đốt nhẹ một ít chế phẩm trong ống nghiệm, sẽ bay hơi màu tím, hơi này ngưng tụ thành những muối tinh thể màu đen ánh xanh trên thành ống.

B. Lấy 10 ml dung dịch bão hòa chế phẩm, thêm 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, sẽ hiện màu lam. Màu sẽ mất khi đun nóng, để nguội màu lam xuất hiện trở lại.

Clorid và bromid

Không được quá 0,025 %.

Dung dịch S: Nghiền 1,5 g chế phẩm với 10 ml *nước*, lọc, rửa phễu lọc bằng *nước* và pha loãng dịch lọc thành 15 ml bằng *nước*. Thêm 0,5 g *kẽm bột (TT)* vào dung dịch trên. Khi dung dịch mất màu, lọc và rửa phễu lọc với *nước* cho tới khi thu được 20 ml dịch lọc. Lấy 5 ml dung dịch S, thêm 1,5 ml *amoniac (TT)* và 3 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*. Lọc, rửa phễu với *nước* cho đến khi thu được 10 ml dịch lọc, thêm vào 1,5 ml *acid nitric (TT)* và để yên một phút. Dung dịch này không được đục hơn dung dịch đối chiếu pha đồng thời với dung dịch thử gồm 10,75 ml *nước*; 0,25 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*; 0,2 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 0,3 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*.

Cẩn không bay hơi

Không được quá 0,1%.

Cân chính xác 1,00 g chế phẩm vào bát sứ đã cân bì, đun trên cách thủy cho đến khi iod bay hơi hết. Sấy cân ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Khối lượng cân còn lại không được quá 1 mg.

Định lượng

Trong một bình nón nút mài, hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch kali iodid 20 %* và 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*. Khi chế phẩm tan hết, thêm 50 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* vào lúc cuối định lượng.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 12,69 mg iod.

Bảo quản

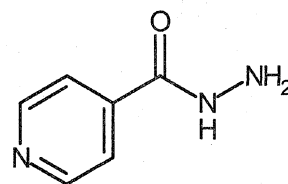
Đựng trong lọ thủy tinh màu, có nút thủy tinh kín, để ở nơi mát.

Loại thuốc

Sát khuẩn.

Chế phẩm

Dung dịch iod 1 %, cồn iod 1 %, cồn iod 5 %.

ISONIAZID***Isoniazidum***

$C_6H_7N_3O$

P.t.l: 137,1

Isoniazid là pyridin-4-carbohydrazid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_6H_7N_3O$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay tinh thể không màu, không mùi. Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, khó tan trong cloroform, rất khó tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C.

Nhóm II: A, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của isoniazid chuẩn hoặc phổ hồng ngoại đối chiếu của isoniazid chuẩn.

B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước*, thêm dung dịch nóng của 0,10 g *vanilin (TT)* trong 10 ml *nước*, để yên và cọ thành ống nghiệm bằng một đũa thủy tinh, sẽ có tủa vàng, tủa này sau khi kết tinh lại bằng 5 ml *ethanol 70 %* và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C, có điểm chảy từ 226 °C đến 231 °C (Phụ lục 6.7).

C. Điểm chảy: 170 °C đến 174 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước* không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S từ 6,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Hydrazin và tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Hệ dung môi: Nước - aceton - methanol - ethyl acetat (10 : 20 : 20 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp đồng thể tích *aceton* (TT) và *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50,0 mg *hydrazin sulfat* (TT) trong 50 ml *nước* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *aceton* (TT). Lấy 10,0 ml dung dịch này, thêm 0,2 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích *aceton* (TT) và *nước*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai bản mỏng đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Phun bản mỏng bằng *dung dịch dimethylamino benzaldehyd* (TT). Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Dung dịch đối chiếu xuất hiện thêm vết tương ứng với hydrazin. Vết tương ứng với hydrazin của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết tương ứng với hydrazin của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 2,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,250 g chế phẩm, hòa tan trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 20,0 ml dung dịch trên, thêm 100 ml *nước*, 20 ml *acid hydrocloric* (TT), 0,2 g *kali bromid* (TT) và 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl* (TT). Định lượng từ từ bằng *dung dịch kali bromat 0,1 N* (CĐ), lắc liên tục cho tới khi màu đỏ biến mất. Song song tiến hành mẫu trắng trong cùng điều kiện như trên.

1 ml *dung dịch kali bromat 0,1 N* (CĐ) tương đương với 3,429 mg C₆H₇N₃O.

Bảo quản

Trong lọ thủy tinh nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Phòng và phối hợp với các thuốc khác để điều trị lao.

Chế phẩm

Viên rimifon 150 mg, nang, thuốc tiêm, siro.

VIÊN NÉN ISONIAZID

Tabellae Isoniazidi

Là viên nén chứa isoniazid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng isoniazid, C₆H₇N₃O, từ 95,0 đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Chiết một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g isoniazid bằng 10 ml *ethanol 96 %* (TT) trong 15 phút, ly tâm và gạn lớp chất lỏng. Chiết cạn với *ethanol 96 %* (TT) thêm 2 lần nữa, mỗi lần 10 ml và gộp các dịch chiết rồi bốc hơi đến khô. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của isoniazid.

B. Chiết một lượng bột viên tương ứng với 1 mg isoniazid bằng 50 ml *ethanol 96 %* (TT), lọc. Thêm vào 5 ml dịch lọc 0,1 g *natri tetraborat* (TT) và 5 ml *dung dịch 1-cloro-2,4-dinitrobenzen 5 %* trong *ethanol 96 %*. Bốc hơi trên cách thủy đến khô và tiếp tục đun nóng trong 10 phút nữa. Thêm vào cặn 10 ml *methanol* (TT), trộn đều sẽ xuất hiện màu đỏ tía.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Tiến hành: Đo độ hấp thụ của dịch lọc môi trường sau khi hòa tan (pha loãng nếu cần) ở bước sóng cực đại 263 nm (Phụ lục 4.1). Tính lượng isoniazid, C₆H₇N₃O, được hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 307 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 263 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % lượng isoniazid so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 0,4 g isoniazid và hòa tan kỹ với *nước*. Lọc và rửa cặn bằng *nước*, tập trung dịch lọc và dịch rửa, thêm *nước* vừa đủ 250,0 ml. Hút 50,0 ml dung

dịch thu được, thêm 50 ml nước, 20 ml acid hydrochloric (TT) và 0,2 g kali bromid (TT). Chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2) với dung dịch kali bromat 0,1 N (CĐ) hoặc dùng 2 giọt chỉ thị đỏ methyl (TT) và chuẩn độ cho đến khi hết màu đỏ.

1 ml dung dịch kali bromat 0,1 N (CĐ) tương đương với 3,429 mg $C_6H_7N_3O$.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng và tránh ẩm.

Loại thuốc

Thuốc kháng lao.

Hàm lượng thường dùng

10 mg; 50 mg; 150 mg; 300 mg.

KALI BROMID

Kali bromidum

KBr

P.t.l: 119,0

Kali bromid phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % KBr, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng. Dễ tan trong nước và glycerin, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S cho phản ứng đặc trưng của kali và của bromid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml dung dịch bromothymol xanh (TT). Màu của dung dịch phải chuyển khi thêm không quá 0,5 ml dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (CĐ) hoặc 0,5 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ).

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 5 ml dung dịch S pha loãng với nước thành 10 ml để thử.

Magnesi và các kim loại kiềm thổ

Không được quá 0,02 % tính theo calci (Phụ lục 9.4.16).

Dùng 10,0 g chế phẩm để thử. Thử tích natri edetat 0,01 M (CĐ) đã dùng không được quá 5,0 ml.

Bromat

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 1 ml dung dịch hồ tinh bột (TT), 0,1 ml dung dịch kali iodid 10 % (TT) và 0,25 ml dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT). Để chỗ tối tránh ánh sáng. Sau 5 phút, dung dịch không được có màu xanh hay tím.

Clorid

Không được quá 0,6 %.

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 20 ml dung dịch acid nitric 2 M (TT), thêm 5 ml dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc (100 tt) (TT). Đun trên nồi cách thủy cho đến khi dung dịch hoàn toàn không màu. Rửa thành bình bằng nước, đun trên nồi cách thủy 15 phút, để nguội rồi pha loãng với nước thành 50 ml. Thêm 5,0 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 M (CĐ) và 1 ml dibutyl phthalat (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch amoni thiocyanat 0,1 M (CĐ), dùng 5 ml dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT) làm chỉ thị. Không được dùng quá 1,7 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 M (CĐ).

Song song tiến hành một mẫu trắng.

Iodid

Lấy 5 ml dung dịch S, thêm 0,15 ml dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT) và lắc với 2 ml cloroform (TT). Lớp cloroform vẫn phải không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Sulfat

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 15 ml dung dịch S để thử.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Định lượng

Hòa tan 2,000 g chế phẩm trong 100,0 ml nước. Lấy 10,0 ml dung dịch này, thêm 50 ml nước, 5 ml dung dịch acid nitric 2 M (TT), 25,0 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 M (CĐ) và 2 ml dibutyl phthalat (TT). Lắc và chuẩn độ bằng dung dịch amoni thiocyanat 0,1 M (CĐ), dùng 2 ml dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT) làm chỉ thị và lắc mạnh trước điểm kết thúc.

Khi tính kết quả trừ đi số ml dung dịch bạc nitrat 0,1 M (CĐ) đã dùng ở phép thử clorid.

1 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 M (CĐ) tương đương với 11,90 mg KBr.

Loại thuốc

An thần.

KALI CLORID

Kalii chloridum

KCl

P.t.l: 74,6

Kali clorid phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % KCl, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu hoặc bột kết tinh trắng, không mùi. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol.

Định tính

Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải cho các phản ứng của ion kali và ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 50,0 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml dung dịch xanh bromothymol (TT). Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,5 ml dung dịch natri hydroxyl 0,01 N (CĐ) hoặc 0,5 ml dung dịch acid hydrochloric 0,01 N (CĐ).

Sulfat

Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 5 ml dung dịch S, thêm nước vừa đủ 15 ml và tiến hành thử.

Iodid

Làm ẩm 5,0 g chế phẩm bằng cách thêm từng giọt hỗn hợp vừa mới pha gồm 25 ml dung dịch hồ tinh bột (TT), 2,0 ml dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT), 0,15 ml dung dịch natri nitrit 10 % và 25 ml nước. Sau 5 phút, quan sát dưới ánh sáng thường: Hỗn hợp thử nghiệm không được có bất kỳ tiểu phân hoặc vết màu xanh nào xuất hiện.

Bromid

Không được quá 0,1 %.

Pha loãng 1,0 ml dung dịch S thành 50 ml bằng nước. Thêm vào 5,0 ml dung dịch này 2,0 ml dung dịch đỏ phenol (TT) và 1,0 ml dung dịch cloramin T 0,02 % (TT), trộn đều ngay. Sau đúng 2 phút, thêm 0,15 ml dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (TT), trộn đều và pha loãng thành 10,0 ml bằng nước. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này ở bước sóng 590 nm, dùng nước làm mẫu trắng, không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch được chuẩn bị trong cùng điều kiện và cùng thời gian nhưng thay 5,0 ml dung dịch thử bằng 5,0 ml dung dịch kali bromid chuẩn chứa 3,0 mg/l.

Bari

Lấy 5,0 ml dung dịch S, thêm 5,0 ml nước và 1,0 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT). Sau 15 phút, dung dịch thử không được đục hơn một hỗn hợp gồm 5,0 ml dung dịch S và 6,0 ml nước.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12,0 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 5,0 ml dung dịch S, thêm nước vừa đủ 10 ml và tiến hành thử.

Magnesi và các kim loại kiềm thổ

Không được quá 0,02 % (tính theo calci) (Phụ lục 9.4.16).

Dùng 10,0 g chế phẩm để thử. Thể tích dung dịch natri edetat 0,01 M (CĐ) đã dùng không được quá 5,0 ml.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Định lượng

Hòa tan 1,300 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy chính xác 10,0 ml dung dịch trên cho vào bình nón, thêm 50 ml nước, 5 ml dung dịch acid nitric 12,5 % (TT), 25,0 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ) và 2 ml dibutylphthalat (hoặc nitrobenzen) (TT). Lắc đều và chuẩn độ bằng dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N (CĐ). Dùng 2 ml dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT) làm chỉ thị. 1 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ) tương đương với 7,46 mg KCl.

Đối với chế phẩm dự định dùng để pha các dung dịch thẩm phân và các dung dịch thuốc tiêm, ngoài các yêu cầu trên phải đạt yêu cầu về natri và nhôm.

Natri

Không được quá 0,1 %.

Xác định bằng phương pháp quang phổ nguyên tử phát xạ (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan trong nước 0,5084 g natri clorid (TT) đã được sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 3 giờ và pha loãng thành 1000,0 ml với cùng dung môi (200 µg Na/ml), pha loãng tiếp theo yêu cầu.

Đo cường độ phát xạ ở 589 nm.

Nhôm

Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.9).

Dung dịch thử: Hòa tan 4,0 g chế phẩm trong 100 ml nước, thêm 10 ml dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT).

Dung dịch đối chiếu: Trộn 2,0 ml *dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu (TT)* với 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 98 ml *nước*.

Dung dịch mẫu trắng: Trộn 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* với 100 ml *nước*.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín, để nơi khô ráo, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Bổ sung chất điện giải.

Chế phẩm

Dung dịch tiêm kali clorid; Dịch truyền dextrose kali clorid và natri clorid; Dịch truyền dextrose và kali clorid; Hỗn hợp muối pha dung dịch uống bù chất điện giải. Viên kali clorid tác dụng kéo dài.

THUỐC TIÊM KALI CLORID

Injectio Kalii chloridi

Thuốc tiêm kali clorid là dung dịch vô khuẩn chứa kali clorid trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng kali clorid, KCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

Dung dịch chế phẩm cho các phản ứng của ion clorid và ion kali (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm

Pha loãng một thể tích chế phẩm với *nước không có carbon dioxyl (TT)* để được dung dịch có nồng độ kali clorid 10 %, nếu cần. Lấy 50 ml dung dịch trên, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* hoặc 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*.

Nội độc tố vi khuẩn

Thực hiện theo phép thử Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)

Pha loãng chế phẩm với *nước BET* để thu được dung dịch có nồng độ kali clorid 0,5 % và điều chỉnh pH của dung dịch bằng 7,0 (nếu cần) (dung dịch A). Giới hạn nồng độ nội độc tố của dung dịch A là 3,0 IU/ml. Tiến hành thử nghiệm sử dụng thuốc thử lysat có độ nhạy không được ít hơn 0,0625 IU/ml và giá trị pha loãng cực đại của dung dịch A được tính toán từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong thử nghiệm.

Định lượng

Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương đương với khoảng 0,15 g kali clorid, thêm 30 ml *nước*. Định lượng bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch kali cromat 5 % (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 7,46 mg KCl.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Bổ sung chất điện giải.

Hàm lượng thường dùng

Dung dịch tiêm 10 %.

VIÊN NÉN KALI CLORID

Tabellae Kalii chloridi

Là viên nén bao giải phóng hoạt chất chậm có chứa kali clorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) mục “Viên bao” và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng kali clorid, KCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén bao màu trắng hoặc màu đồng nhất.

Định tính

Lấy một lượng bột viên chế phẩm (từ viên đã loại bỏ vỏ bao và nghiền mịn) tương đương với khoảng 1 g kali clorid, thêm 20 ml *nước*, lắc siêu âm 20 phút, lọc. Dịch lọc phải cho các phản ứng của ion clorid và ion kali (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4).

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 1 h, 2 h và 6 h.

Cách tiến hành: Hút chính xác 10,0 ml dung dịch môi trường hòa tan chế phẩm ở mỗi thời điểm (sau 1 giờ, sau 2 giờ và sau 6 giờ), thêm 25 ml *nước*, 5 ml *dung dịch chứa 25 % (tt/tt) acid acetic băng* và 0,1 ml *dung dịch bão hòa kali sulfat*. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,01 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,01 N (CĐ)* tương đương với 0,746 mg kali clorid.

Yêu cầu: Lượng kali clorid, KCl, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan sau 1 giờ không được lớn hơn 50 %; sau 2 giờ không được ít hơn 25 % và không được lớn hơn 75 %; sau 6 giờ không được ít hơn 75 %.

Định lượng

Dung dịch thử: Lấy 10 viên chế phẩm cho vào bình định mức 500 ml, thêm 400 ml *nước trao đổi ion (TT)*, lắc trong 30 phút, đun trên cách thủy 45 phút. Để nguội, thêm *nước trao đổi ion* đến định mức, trộn đều và để yên trong 24 giờ. Lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng dịch lọc thu được bằng *nước trao đổi ion (TT)* để thu được dung dịch có chứa nồng độ kali thích hợp.

Dung dịch chuẩn: Pha loãng một thể tích dung dịch kali mẫu 600 phần triệu K với *nước trao đổi ion (TT)* để thu được dung dịch kali chuẩn có nồng độ thích hợp.

Tiến hành đo cường độ phát xạ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử bằng phương pháp quang phổ nguyên tử phát xạ và hấp thụ (Phụ lục 4.4) tại bước sóng 766,5 nm.

1 mg kali tương đương với 1,908 mg kali clorid.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Bổ sung chất điện giải.

Hàm lượng thường dùng

600 mg.

KALI IODID***Kalii iodidum***

KI P.t.l: 166,0

Kali iodid phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % KI, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng, không mùi, dễ chảy khi tiếp xúc với không khí ẩm.

Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong glycerin, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải cho phản ứng của ion kali và ion iodid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn kiểm

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)* và 1 giọt dung dịch *phenol-phtalein (TT)*, dung dịch không được có màu.

Iodat

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và 0,2 ml dung dịch *acid sulfuric 10 % (TT)*. Để yên trong tối 2 phút, hỗn hợp không được có màu xanh lam.

Sulfat

Không được quá 0,015 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 10 ml dung dịch S pha loãng với *nước* thành 15 ml và tiến hành thử.

Thiosulfat

Thêm 0,1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và 0,1 ml *dung dịch iod 0,005 M* vào 10 ml dung dịch S, màu xanh lam tạo thành.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 5 ml dung dịch S pha loãng thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Định lượng

Hòa tan 1,500 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 20,0 ml dung dịch trên, thêm 40 ml *acid hydrocloric (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch kali iodat 0,05 M (CĐ)* cho tới khi màu chuyển từ đỏ sang vàng. Thêm 5 ml *cloroform (TT)* và tiếp tục chuẩn độ, lắc mạnh đến khi lớp cloroform mất màu.

1 ml *dung dịch kali iodat 0,05 M (CĐ)* tương đương với 16,60 mg KI.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chất kháng giáp.

Chế phẩm

Dung dịch uống kali iodid.

KALI PERMANGANAT***Kalii permanganas***

KMnO₄ P.t.l: 158,0

Kali permanganat phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % KMnO₄.

Tính chất

Tinh thể hình lăng trụ màu tím sẫm hoặc gần như đen, hoặc bột dạng hạt, màu tím sẫm hoặc đen nâu, thường có ánh kim, không mùi.

Dễ bị phân hủy và gây nổ khi tiếp xúc với một số chất hữu cơ và chất dễ bị oxy hóa. Tan trong nước lạnh, dễ tan trong nước sôi.

Cần thận trọng khi tiến hành thử nghiệm với kali permanganat vì khi tiếp xúc trực tiếp chất này với một số chất hữu cơ hoặc chất dễ bị oxy hóa khác nó có thể gây nổ ngay cả ở trạng thái lỏng hoặc rắn.

Định tính

A. Hòa tan khoảng 50 mg chế phẩm trong 5 ml nước, thêm 1 ml ethanol 96 % (TT) và 0,3 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT). Dung dịch xuất hiện màu xanh. Đun dung dịch đến sôi, tủa nâu xám xuất hiện.

B. Lọc hỗn hợp thu được từ phép thử A. Dịch lọc cho phản ứng đặc trưng của ion kali (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,75 g chế phẩm trong 25 ml nước, thêm 3 ml ethanol 96 % (TT) và đun sôi từ 2 phút đến 3 phút. Để nguội, thêm nước vừa đủ 30 ml và lọc.

Dung dịch S phải không màu (Phụ lục 9.3, Phương pháp 2).

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 10 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 12 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml với nước và tiến hành thử.

Các chất không tan trong nước

Không được quá 1,0 %.

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 50 ml nước. Đun sôi, lọc qua phễu thủy tinh xóp đã cân bì trước (phễu có số độ xóp 16). Rửa cặn trên phễu bằng nước cho đến khi nước rửa không màu. Sấy cặn ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C cho đến khối lượng không đổi. Khối lượng cặn còn lại không được quá 5 mg.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,300 g chế phẩm, hòa tan trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 20,0 ml dung dịch này cho vào bình nón có nút mài, thêm 20 ml nước, 1 g kali iodid (TT) và 10 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT). Chuẩn độ iod giải phóng ra bằng dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ), dùng 1 ml dung dịch hồ tinh bột (TT) làm chỉ thị và được cho vào khi hỗn hợp định lượng nhạt màu.

1 ml dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ) tương đương với 3,16 mg KMnO_4 .

Bảo quản

Trong chai lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chất sát trùng.

KAOLIN NẶNG***Kaolinum ponderosum***

Kaolin nặng là nhôm silicat thiên nhiên ngâm nước đã được loại tạp chất, có thành phần thay đổi.

Tính chất

Bột mịn trắng hoặc trắng ngà, sờ có cảm giác trơn. Thực tế không tan trong nước và các dung môi hữu cơ.

Định tính

A. Thêm 1 g kali nitrat (TT) và 3 g natri carbonat (TT) vào 0,5 g chế phẩm trong chén kim loại và đun nóng cho đến khi hỗn hợp chảy. Để nguội, thêm vào hỗn hợp 20 ml nước sôi, trộn đều và lọc. Rửa cặn với 50 ml nước. Thêm vào cặn 1 ml acid hydrocloric (TT) và 5 ml nước. Lọc, thêm vào dịch lọc 1 ml dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT) và lọc. Thêm vào dịch lọc 3 ml dung dịch amoni clorid (TT), tủa keo trắng xuất hiện.

B. Thêm 2,0 g chế phẩm được chia thành 20 phần vào 100 ml dung dịch natri lauryl sulfat 1 % trong một ống đong chia vạch 100 ml có đường kính 30 mm. Sắp xếp thứ tự thêm vào sao cho khoảng cách giữa các lần thêm vào của mỗi phần cách nhau 2 phút. Để yên 2 giờ. Thử tích quan sát được của phần cặn lắng xuống không được lớn hơn 5 ml.

C. Lấy 0,25 g chế phẩm thử phản ứng của silicat (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 20 ml nước không có carbon dioxyd (TT) vào 1,0 g chế phẩm, lắc trong 2 phút và lọc. Thêm vào 10 ml dịch lọc 0,1 ml dung dịch phenolphthalein (TT). Dung dịch phải không màu và phải chuyển sang màu hồng khi thêm không quá 0,25 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ).

Tạp chất hữu cơ

Nung đến đỏ 0,3 g chế phẩm trong chén nung. Cặn chỉ được phép hơi có màu so với chế phẩm ban đầu.

Khả năng hấp phụ

Thêm 10,0 ml dung dịch xanh methylen 0,37 % vào 1,0 g chế phẩm trong ống nghiệm có nút mài và lắc trong 2 phút. Để lắng. Ly tâm và pha loãng dung dịch này theo tỷ lệ 1 thành 100 bằng nước. Dung dịch thu được có màu không được đậm hơn màu của dung dịch xanh methylen 0,003 %.

Khả năng trương nở

Nghiền 2 g chế phẩm với 2 ml nước. Hỗn hợp thu được không được chảy.

Các chất tan trong acid vô cơ

Không được quá 1,0 %.

Thêm 7,5 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT) và 27,5 ml nước vào 5,0 g chế phẩm, đun sôi trong 5 phút. Lọc, rửa cặn trên phễu lọc bằng nước. Pha loãng bằng nước toàn bộ dịch lọc và nước rửa thành 50,0 ml (giữ một phần dung dịch này dùng để thử kim loại nặng). Thêm 1,5 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT) vào 10,0 ml dung dịch trên. Bốc hơi trên cách thủy đến khô và nung. Khối lượng của cặn không được quá 10 mg.

Clorid

Không được quá 0,025 % (Phụ lục 9.4.5).

Dung dịch S: Thêm một hỗn hợp gồm 6 ml acid acetic (TT) và 34 ml nước vào 4 g chế phẩm. Lắc trong một phút và lọc.

Lấy 2 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 1,5 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Calci

Không được quá 0,025 % (Phụ lục 9.4.3).

Lấy 4 ml dung dịch S pha loãng với nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Thêm 5 ml nước, 10 ml acid hydrocloric (TT) và 25 ml methyl isobutyl ceton (TT) vào 5 ml dung dịch được chuẩn bị để thử các chất tan trong acid vô cơ. Lắc trong 2 phút. Để yên cho tách lớp. Bốc hơi lớp nước đến khô trên cách thủy. Hòa tan cặn trong 1 ml acid acetic (TT) và pha loãng thành 25 ml bằng nước, lọc. Lấy 12 ml dịch lọc tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Khi kaolin nặng được dự định dùng sản xuất các thuốc để dùng trong thì phải đáp ứng yêu cầu phép thử kim loại nặng dưới đây:

Kim loại nặng

Không được quá 25 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Thêm 10 ml nước, 20 ml acid hydrocloric (TT) và 25 ml methyl isobutyl ceton (TT) vào 10 ml dung dịch được chuẩn bị để thử các chất tan trong acid vô cơ. Lắc trong 2 phút. Để yên cho tách lớp. Bốc hơi lớp nước đến khô trên cách thủy. Hòa tan cặn trong 1 ml acid acetic (TT) và pha loãng thành 25 ml bằng nước, lọc. Lấy 12 ml dịch lọc tiến hành thử theo phương pháp 1.

Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Độ nhiễm khuẩn

Tổng số vi khuẩn hiếu khí có thể sống lại được không được quá 1000 trên một gam chế phẩm. Xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6).

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Nhãn

Phải ghi rõ khả năng sử dụng của chế phẩm, ví dụ như chế phẩm có phù hợp cho mục đích sản xuất các thuốc dùng trong hay không.

Chế phẩm

Thuốc đắp.

KAOLIN NHẸ***Kaolinum leve***

Kaolin nhẹ là nhôm silicat thiên nhiên ngâm nước đã được loại hầu hết các tạp chất bằng cách gạn lọc và sấy khô. Có chứa tác nhân phân tán thích hợp.

Tính chất

Bột trắng nhẹ, không có các hạt cát sạn, không mùi hoặc gần như không mùi, sờ có cảm giác trơn. Thực tế không tan trong nước và các acid vô cơ.

Định tính

A. Thêm 1 g kali nitrat (TT) và 3 g natri carbonat (TT) vào 0,5 g chế phẩm trong chén kim loại và đun nóng cho đến khi hỗn hợp chảy. Để nguội, thêm vào hỗn hợp 20 ml nước sôi, trộn đều và lọc. Rửa cặn với 50 ml nước. Thêm vào cặn 1 ml acid hydrocloric (TT) và 5 ml nước, lắc kỹ. Lọc, thêm vào dịch lọc 1 ml dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT) và lọc. Thêm vào dịch lọc 3 ml dung dịch amoni clorid (TT), tủa keo trắng xuất hiện.

B. 0,25 g chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của silicat (Phụ lục 8.1).

C. Nghiền 2 g chế phẩm với 2 ml nước. Hỗn hợp thu được sẽ chảy.

Tiểu phân thô

Chuyển 5 g chế phẩm vào ống đong có nút mài kích thước 16 cm × 35 mm, thêm 60 ml dung dịch natri pyrophosphat 1 %, lắc kỹ và để yên 5 phút. Dùng pipet hút 50 ml ở vị trí dưới bề mặt chất lỏng khoảng 5 cm. Thêm 50 ml nước vào phần chất lỏng còn lại, lắc và để yên 5 phút, tiến hành hút 50 ml chất lỏng giống như trên. Nhắc lại thao tác này trong cùng điều kiện như trên đến khi hút được tổng số hỗn dịch là 400 ml. Chuyển phần còn lại trong ống đong vào cốc và bốc hơi đến khô trên cách thủy. Cặn thu được sau khi sấy đến khối lượng không đổi ở 105 °C không được quá 25 mg.

Tiểu phân mịn

Phân tán 5 g chế phẩm trong 250 ml nước bằng cách lắc mạnh trong 2 phút trong bình nón có nút mài, rót ngay vào ống đong thủy tinh có đường kính 5 cm, đồng thời chuyển 20 ml hỗn dịch trên bằng pipet vào cốc thủy tinh và bốc hơi đến khô, sấy đến khối lượng không đổi ở 105 °C. Phần còn lại trong ống đong để yên trong 4 giờ ở 20 °C. Hút 20 ml hỗn dịch bằng pipet ở vị trí dưới bề mặt chất lỏng đúng 5 cm và không được làm đục, chuyển vào cốc thủy tinh và bốc hơi đến khô, sấy đến khối lượng không đổi ở 105 °C. Khối lượng cặn của lần hút sau không được nhỏ hơn 70 % khối lượng cặn của lần hút trước.

Arsen

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 0,50 g chế phẩm, thêm 25 ml nước và tiến hành thử theo phương pháp A.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Đun nóng trên cách thủy 6,0 g chế phẩm trong 15 phút dưới ống sinh hàn ngược với hỗn hợp gồm 70 ml nước và 10 ml acid hydrocloric (TT), lọc. Thêm 0,5 ml acid nitric (TT) vào 40 ml dịch lọc và bốc hơi đến khi được khối cặn nhão, sau đó thêm 20 ml nước, 2 g amoni clorid (TT), 2 g amoni thiocyanat (TT) và chiết 2 lần, mỗi lần với 10 ml hỗn hợp đồng thể tích alcol isoamyl và ether (TT). Thêm vào lớp nước 2 g acid citric (TT) và nước vừa đủ 60 ml. Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Clorid

Không được quá 330 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Đun sôi 1,0 g chế phẩm với 80 ml nước và 20 ml dung dịch acid nitric 2 M (TT) dưới ống sinh hàn ngược trong 5 phút, để nguội và lọc. Lấy 15 ml dịch lọc tiến hành thử.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Mất khối lượng do nung

Không được quá 15,0 %.

Nung 1,0 g chế phẩm ở 600 °C đến khối lượng không đổi.

Chất hòa tan

Đun sôi 2 g chế phẩm trong 100 ml dung dịch acid hydrocloric 0,2 M (TT) dưới ống sinh hàn ngược trong 5 phút, để nguội và lọc. Bốc hơi 50 ml dịch lọc đến khô. Cẩn thu được, sau khi nung ở 600 °C trong 30 phút, không được quá 10 mg.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Chống tiêu chảy.

Chế phẩm

Hỗn hợp kaolin, hỗn hợp kaolin và morphin.

Ghi chú: Khi kaolin hoặc kaolin nhẹ được kê đơn hoặc yêu cầu thì cấp phát kaolin nhẹ, trừ khi biết chắc chắn kaolin nhẹ thiên nhiên được yêu cầu.

KAOLIN NHẹ THIÊN NHIÊN***Kaolinum leve naturale***

Kaolin nhẹ thiên nhiên là nhôm silicat thiên nhiên ngâm nước đã được loại hầu hết các tạp chất bằng cách gạn lọc và sấy khô. Không chứa các tác nhân phân tán.

Tính chất

Bột trắng nhẹ, không có các hạt cát sạn, không mùi hoặc gần như không mùi, sờ có cảm giác trơn. Thực tế không tan trong nước và các acid vô cơ.

Định tính

Phép thử A và B được tiến hành theo chuyên luận “kaolin nhẹ”.

C. Nghiền 2 g chế phẩm với 2 ml nước. Hỗn hợp thu được không được chảy.

Tiểu phân thô, arsen, kim loại nặng, clorid, mất khối lượng do làm khô, mất khối lượng do nung và chất hòa tan

Được tiến hành thử và phải đáp ứng yêu cầu như trong chuyên luận kaolin nhẹ.

Tiểu phân mịn

Phân tán 5 g chế phẩm trong 250 ml nước có chứa 50 mg natri pyrophosphat (TT) bằng cách lắc mạnh trong 2 phút trong bình nón có nút mài, rót ngay vào ống đong thủy tinh có đường kính 5 cm, đồng thời chuyển 20 ml hỗn dịch trên bằng pipet vào cốc thủy tinh và bốc hơi đến khô, sấy đến khối lượng không đổi ở 105 °C. Phần còn lại trong ống đong để yên trong 4 giờ ở 20 °C. Hút 20 ml hỗn dịch bằng pipet ở vị trí dưới bề mặt chất lỏng đúng 5 cm và không được làm đục, chuyển vào cốc thủy tinh và bốc hơi đến khô, sấy đến khối lượng không đổi ở 105 °C. Khối lượng cặn của lần hút sau không được nhỏ hơn 70 % khối lượng cặn của lần hút trước.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Chống tiêu chảy.

Chế phẩm

Hỗn hợp kaolin, hỗn hợp kaolin và morphin.

KẼM OXYD**Zinci oxydum**

ZnO

P.t.l: 81,4

Kẽm oxyd phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % ZnO, tính theo chế phẩm đã nung khô.

Tính chất

Bột vô định hình xốp, màu trắng hoặc trắng hơi ngả vàng. Để ra ngoài không khí dễ hút ẩm và khí carbon dioxyd.

Thực tế không tan trong nước và ethanol 96 %, tan trong các acid vô cơ loãng; tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm và dung dịch amoniac loãng.

Định tính

A. Đốt một ít chế phẩm, sẽ chuyển sang màu vàng. Để nguội, màu vàng mất.

B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 1,5 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)* và pha loãng với nước thành 5 ml. Dung dịch cho phản ứng đặc trưng của kẽm (Phụ lục 8.1).

Giới hạn kiềm

Lắc 1,0 g chế phẩm với 10 ml nước sôi, thêm 2 giọt *dung dịch phenolphthalein (TT)* và lọc. Nếu dịch lọc có màu hồng thì màu phải mất khi thêm không quá 0,3 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (CĐ)*.

Carbonat và chất không tan trong acid

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 15 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)*. Chế phẩm phải tan và không sủi bọt. Dung dịch thu được không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Arsen

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 0,2 g chế phẩm thử theo phương pháp A.

Cadmi

Không được quá 10 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).

Dung dịch thử: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 14 ml hỗn hợp đồng thể tích của nước và acid nitric không có chì và cadmi (TT). Đun sôi trong 1 phút, làm nguội và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước.

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn bằng cách dùng dung dịch cadmi chuẩn 0,1 % và pha loãng với *dung dịch acid nitric không có chì và cadmi 3,5 % (tt/tt)*.

Đo độ hấp thụ ở 228,8 nm, dùng đèn cathod rỗng cadmi làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen hoặc không khí - propan.

Sắt

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.13).

Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 1 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)* và pha loãng với nước thành 10 ml để tiến hành thử. Dùng 0,5 ml *acid mercapto-acetic (TT)* trong phép thử này.

Chì

Không được quá 50 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).

Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 24 ml hỗn hợp đồng thể tích của nước và acid nitric không có chì và cadmi (TT). Đun sôi trong 1 phút, làm nguội và pha loãng thành 100,0 ml với nước.

Dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch chuẩn bằng cách dùng dung dịch chì chuẩn 0,1 % và pha loãng với *dung dịch acid nitric không có chì và cadmi 3,5 % (tt/tt)*.

Đo độ hấp thụ ở 283,3 nm, dùng đèn cathod rỗng chì làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen. Tùy theo thiết bị, có thể sử dụng vạch 217,0 nm.

Mất khối lượng do nung

Không được quá 1,0 %.

Nung 1,00 g chế phẩm ở 500 °C tới khối lượng không đổi.

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong *dung dịch acid acetic loãng (TT)*. Tiến hành chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* theo phương pháp định lượng kẽm bằng chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 8,14 mg ZnO.

Bảo quản

Đựng trong chai lọ nút kín.

THUỐC MỠ KẼM OXYD**Unguentum Zinci oxydi**

Là thuốc mỡ dùng ngoài da chứa kẽm oxyd.

Kẽm oxyd phải được tán thật mịn qua rây số 125 trước khi điều chế.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng kẽm oxyd, ZnO, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Thuốc mỡ màu trắng.

Định tính

Lấy một lượng thuốc mỡ tương ứng với khoảng 50 mg kẽm oxyd cho vào chén nung, đun nhẹ cho chảy rồi tiếp tục đốt nóng từ từ, tăng dần nhiệt độ cho đến khi toàn bộ chế phẩm cháy thành than. Tiếp tục

đốt mạnh, sẽ có màu vàng xuất hiện, khi để nguội thì trở thành màu trắng, cho thêm 10 ml *nước* và 5 ml *dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT)* vào cần, lắc kỹ và lọc. Thêm 2 đến 3 giọt *dung dịch kali ferocyanid 10 % (TT)* vào dịch lọc, sẽ xuất hiện tủa trắng.

Calci, magnesi và các chất vô cơ lạ

Chuyển 2 g thuốc mỡ vào chén nung, đun nhẹ cho chảy rồi đốt nóng từ từ, tăng dần nhiệt độ cho đến khi toàn khối thuốc chảy thành than. Tiếp tục nung cho đến khi cần có màu vàng đồng đều. Thêm 6 ml *dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT)* vào cần. Đun hỗn hợp trên cách thủy 10 - 15 phút, dung dịch phải không màu, trong. Lọc dung dịch thu được. Pha loãng dịch lọc đến 10 ml với *nước* và thêm dung dịch *amoniac 10 % (TT)* đến khi có tủa tạo thành rồi lại tan. Thêm tiếp 2 ml *dung dịch amoniac oxalat 3,5 % (TT)* và 2 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 12 % (TT)*, dung dịch thu được phải không thay đổi hoặc chỉ hơi đục nhẹ trong vòng 5 phút.

Định lượng

Cân chính xác một lượng thuốc mỡ tương ứng với khoảng 75 mg kẽm oxyd, cho vào chén nung, đun nhẹ đến chảy lỏng rồi đốt nóng từ từ, tăng dần nhiệt độ đến khi toàn khối chảy thành than. Tiếp tục nung đến khi thu được cần có màu vàng đồng đều, để nguội. Hòa cần trong 10 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, đun nóng nếu cần để hòa tan hết cần vào dung dịch. Chuyển dung dịch vào một bình nón. Rửa chén nung với từng lượng nhỏ *nước* và gộp nước rửa vào bình nón trên đến khi thu được khoảng 50 ml dung dịch trong bình. Điều chỉnh pH của dung dịch từ 6 đến 7 bằng cách thêm từng giọt *dung dịch amoniac 10 % (TT)*. Thêm 10 ml *đệm amoniac pH 10,0* và 1 ml *dung dịch đen eriocrom T (TT)* làm chỉ thị và chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ)*.
1 ml *dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ)* tương ứng với 4,069 mg ZnO.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, để chỗ mát.

Hàm lượng thường dùng

1 %.

KẼM SULFAT

Zinci sulfas

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

P.t.l: 287,5

Kẽm sulfat phải chứa từ 99,0 % đến 104,0 % $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể trong suốt không màu, không mùi, dễ lên hoa khi để ngoài không khí khô.

Rất tan trong nước, dễ tan trong glycerin, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 50 ml.

Dung dịch S phải cho phản ứng định tính của kẽm và sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S phải từ 4,4 đến 5,6 (Phụ lục 6.2).

Clorid

Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 3,3 ml dung dịch S, pha loãng với *nước* thành 15 ml để thử.

Sắt

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 2 ml dung dịch S pha loãng với *nước* thành 10 ml để thử. Dùng 0,5 ml *dung dịch acid mercaptoacetic (TT)* trong phép thử này.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 5 ml *acid acetic loãng (TT)*. Tiến hành chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* theo phương pháp định lượng kẽm bằng chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 28,75 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Bảo quản

Trong lọ kín, để chỗ mát.

THUỐC NHỎ MẮT KẼM SULFAT

Collyrium Zinci sulfatis

Là dung dịch vô khuẩn của kẽm sulfat trong nước.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng kẽm sulfat, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong suốt, không màu.

Định tính

Dung dịch chế phẩm cho các phản ứng của các ion kẽm và sulfat (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 4,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Lấy chính xác một thể tích thuốc nhỏ mắt chứa 25 mg kẽm sulfat, thêm 50 ml *nước* và 10 ml *đệm amoniac pH*

10,0 (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch Trilon B 0,01 M (CĐ), dùng hỗn hợp đen eriocrom T (TT) làm chỉ thị. 1 ml dung dịch Trilon B 0,01 M (CĐ) tương đương với 2,875 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Bảo quản

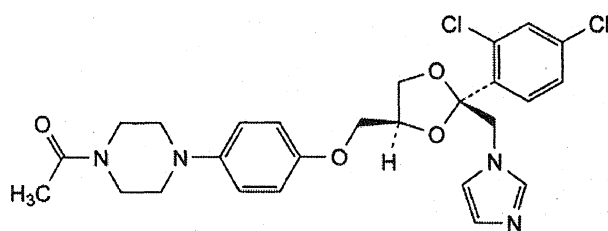
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng

0,5 %.

KETOCONAZOL

Ketoconazolum



và đồng phân đối quang

$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_4$

P.t.l: 531,4

Ketoconazol là 1-acetyl-4-[4-[(2RS,4SR)-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1H-imidazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]phenyl] piperazin, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong dicloromethan, tan trong methanol, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ketoconazol chuẩn.

B. Điểm chảy từ 148 °C đến 152 °C (Phụ lục 6.7).

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel.

Dung môi khai triển (pha động): Dung dịch amoni acetat 15 % - dioxan - ethanol (20 : 40 : 40).

Dung dịch amoni acetat 15 %: Hòa tan 150 g amoni acetat (TT) trong nước, thêm 3 ml acid acetic băng (TT), thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch thử: Hòa tan 30 mg chế phẩm trong pha động và thêm pha động vừa đủ 5 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30 mg ketoconazol chuẩn trong pha động và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 30 mg ketoconazol chuẩn và 30 mg econazol nitrat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng khí ẩm trong 15 phút và để trong bình bão hòa hơi iod đến khi hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ rệt.

D. Lấy khoảng 30 mg chế phẩm vào chén nung sứ, thêm 0,3 g natri carbonat khan (TT). Đốt trên ngọn lửa trong 10 phút. Để nguội, hòa tan cân bằng 5 ml dung dịch acid nitric loãng (TT) và lọc. Thêm vào 1 ml dịch lọc 1 ml nước. Dung dịch thu được phải cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong dicloromethan (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm hơn màu mẫu VN_4 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực

Góc quay cực của dung dịch S từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động:

Pha động A: Acetonitril (TT).

Pha động B: Dung dịch tetrabutyl amoni hydrosulfat 0,34 %.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong methanol (TT) pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng methanol (TT). Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2,5 mg ketoconazol chuẩn và 2,5 mg loperamid hydroclorid chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl .

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	
0 → 10	5 → 50	95 → 50	Gradient tuyến tính
10 → 15	50	50	Đẳng dòng

Cân bằng cột bằng *acetonitril* (TT) ít nhất 30 phút và sau đó bằng hỗn hợp pha động A - pha động B (5 : 95) ít nhất trong 5 phút.

Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sắc ký sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu bằng ít nhất 50 % thang đo.

Tiêm dung dịch phân giải. Với các điều kiện sắc ký như trên, thời gian lưu của ketoconazol khoảng 6 phút và của loperamid hydroclorid khoảng 8 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với ketoconazol và loperamid hydroclorid ít nhất là 15. Nếu cần, điều chỉnh nồng độ cuối của *acetonitril* trong pha động hoặc chương trình thời gian của gradient dung môi tuyến tính.

Tiêm lần lượt *methanol* (TT) làm mẫu trắng, dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Bỏ qua pic mẫu trắng và các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm, tiến hành theo phương pháp 4.

Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 70 ml hỗn hợp *acid acetic khan* - *methyl ethyl keton* (1 : 7). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 26,57 mg $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống nấm.

Chế phẩm

Viên nén, kem bôi ngoài da.

KEM KETOCONAZOL***Cremoris Ketoconazoli***

Là thuốc kem có chứa ketoconazol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung trong chuyên luận “Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc” (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ketoconazol, $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Kem màu trắng ngà, đồng nhất.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat - methanol - nước - acid acetic (42 : 40 : 15 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lắc một lượng kem tương ứng với khoảng 50 mg ketoconazol trong 50 ml *cloroform* (TT) và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ketoconazol chuẩn 0,1 % trong *cloroform* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử pic chính phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ketoconazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch amoni acetat 1 % (90 : 10). Thay đổi tỷ lệ dung môi nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg ketoconazol chuẩn, hòa tan trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 5,0 ml dung dịch này pha loãng với pha động thành 50,0 ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 30 mg ketoconazol, thêm 40 ml *methanol* (TT), đặt trên cách thủy khuấy cho tan, để lạnh trong nước đá ít nhất 30 phút. Gạn và lọc qua giấy lọc đã thấm ướt bằng *methanol* (TT). Tiếp tục chiết như trên 2 lần nữa, mỗi lần với 20 ml *methanol* (TT). Rửa cốc và giấy lọc bằng *methanol* (TT). Tập trung dịch lọc và dịch rửa, thêm *methanol* (TT) vừa đủ 100,0 ml. Lấy 5,0 ml dịch lọc thu được pha loãng thành 50,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký :

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm) (cột Lichrosorb RP18 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 244 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng (%) ketoconazol, $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, so với lượng ghi trên nhãn dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ trong ketoconazol chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống nấm.

Hàm lượng thường dùng

2 %.

VIÊN NÉN KETOCONAZOL**Tabellae Ketoconazoli**

Là viên nén có chứa ketoconazol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây :

Hàm lượng ketoconazol, $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat - methanol - nước - acid acetic (42 : 40 : 15 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg ketoconazol với 50 ml cloroform (TT) và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ketoconazol chuẩn 0,1 % trong cloroform (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ketoconazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) để được dung dịch có nồng độ thích hợp (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 270 nm, dùng dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch chuẩn ketoconazol có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan. Tính hàm lượng ketoconazol, $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, được hòa tan dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của ketoconazol chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % ketoconazol so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: Methanol - dung dịch đệm amoni acetat 1,0 % (90 : 10). Thay đổi tỷ lệ dung môi nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 30 mg ketoconazol chuẩn trong 40 ml methanol (TT), lắc cho tan, thêm methanol (TT) vừa đủ 50,0 ml. Lấy 5,0 ml dung dịch này pha loãng thành 100,0 ml với pha động.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 30 mg ketoconazol cho vào bình định mức 50 ml. Thêm 40 ml methanol (TT), lắc siêu âm trong 10 phút, thêm methanol (TT) tới định mức, lắc đều. Lọc qua giấy lọc, loại bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc pha loãng thành 100,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký :

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm) (Lichrosorb RP18 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 244 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng ketoconazol, $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, có trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ trong ketoconazol chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống nấm.

Hàm lượng thường dùng

200 mg.

KEM KETOCONAZOL VÀ NEOMYCIN***Cremonis Ketoconazoli et Neomycini***

Là kem bôi da có chứa ketoconazol và neomycin sulfat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng ketoconazol, $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 %, so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng neomycin từ 90,0 % đến 120,0 % so với hoạt lực ghi trên nhãn.

Tính chất

Kem màu trắng đục, đồng nhất.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄ dày 0,25 mm.

Dung môi khai triển: *n*-Hexan - ethyl acetat - methanol - nước - acid acetic băng (42 : 40 : 15 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Chuyển một lượng chế phẩm tương ứng với 50 mg ketoconazol vào bình gạn bằng 50 ml cloroform (TT) và lắc kỹ. Thêm 5 ml nước, lắc kỹ và để phân lớp hoàn toàn. Lấy lớp cloroform và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ketoconazol chuẩn có nồng độ 1 mg/ml trong cloroform (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và màu sắc.

B. Trong phần Định lượng ketoconazol, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G dày 0,25 mm.

Dung môi khai triển: Methanol - amoniac - cloroform (60 : 40 : 20).

Dung dịch thử: Chuyển một lượng chế phẩm tương ứng với 7000 IU neomycin vào bình gạn bằng 10 ml cloroform (TT) và thêm 5 ml nước, lắc kỹ và để phân lớp hoàn toàn. Lấy lớp nước và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch neomycin sulfat chuẩn 0,2 %.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí và phát hiện vết bằng cách đặt bản mỏng trong bình kín đã bão hòa hơi iod đến khi xuất hiện vết hoặc phun *dung dịch ninhydrin 1 % trong n-butanol* và sấy ở 105 °C trong 5 phút. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và màu sắc.

Định lượng***Định lượng ketoconazol***

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch amoni acetat 1 % (9 : 1).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng ketoconazol chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 30 µg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với 15 mg ketoconazol vào cốc có mỏ. Thêm khoảng 30 ml pha động, làm nóng trong cách thủy ở 60 °C và siêu âm khoảng 3 phút. Lặp lại quá trình hòa tan trên thêm 2 lần nữa. Để nguội và chuyển hỗn hợp vào bình định mức dung tích 50,0 ml, tráng rửa cốc bằng pha động và gộp dịch rửa vào bình định mức trên, thêm pha động đến định mức, trộn đều. Làm lạnh trong nước đá trong khoảng 15 phút, lọc và bỏ dịch lọc đầu, để dịch lọc về nhiệt độ phòng. Hút chính xác 5,0 ml dịch lọc và thêm pha động vừa đủ 50,0 ml, trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 244 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic ketoconazol của 6 lần tiêm liên tiếp nhỏ hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng ketoconazol, $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ trong ketoconazol chuẩn.

Định lượng neomycin sulfat

Dung dịch thử: Chuyển một lượng chế phẩm tương ứng với 16 000 IU neomycin vào bình gạn bằng 50 ml cloroform (TT), lắc kỹ và chiết 4 lần, mỗi lần với 20 ml dung dịch đệm số 2. Gộp các dịch chiết,

thổi khí nitơ để loại cloroform hòa tan và chuyển vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm dung dịch đệm số 2 đến định mức. Lọc qua giấy lọc và bỏ dịch lọc đầu. Tiếp tục pha loãng dịch lọc bằng dung dịch đệm số 2 để thu được dung dịch thử có nồng độ tương đương với nồng độ của dung dịch chuẩn.

Tiến hành định lượng theo phương pháp Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

Bảo quản

Trong chai nút kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống nấm.

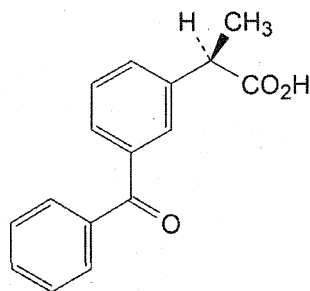
Hàm lượng thường dùng

Ketoconazol 2,0 %.

Neomycin sulfat 3.500 IU/g (0,5 %).

KETOPROFEN

Ketoprofenum



và đồng phân đối quang

$C_{16}H_{14}O_3$

P.t.l: 254,3

Ketoprofen là acid (2*RS*)-2-(3-benzoylphenyl)propanoic, phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $C_{16}H_{14}O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng, thực tế không tan trong nước, rất tan trong aceton, ethanol 96 % và methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ketoprofen chuẩn.

B. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong ethanol 96 % (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng ethanol 96 % (TT). Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm cho một cực đại hấp thụ ở 255 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại từ 615 đến 680.

C. Điểm chảy: Từ 94 °C đến 97 °C (Phụ lục 6.7).

D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - methylen clorid - aceton (1 : 49 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 10 ml aceton (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg ketoprofen chuẩn trong 10 ml aceton (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg indometacin chuẩn trong 10 ml aceton (TT). Thêm vào 1 ml dung dịch này 1 ml dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được hơn 15 cm, để khô bản mỏng ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách riêng biệt.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong aceton (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch chế phẩm phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat pH 3,5: Hòa tan 68,0 g kali dihydro phosphat (TT) trong nước và pha loãng thành 1000,0 ml bằng nước. Điều chỉnh pH 3,5 bằng acid orthophosphoric (TT).

Pha động: Dung dịch đệm pH 3,5 vừa mới pha - acetonitril- nước (2 : 43 : 55).

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg tạp chất chuẩn A của ketoprofen trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10,0 mg tạp chất chuẩn C của ketoprofen trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Thêm vào 1 ml dung dịch này 1 ml dung dịch đối chiếu (2).

Các dung dịch trên được dùng ngay sau khi chuẩn bị.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,15 m × 4,6 mm) được nhồi octadecylsilyl silica gel hình cầu dùng cho sắc ký (5 µm)

có diện tích bề mặt riêng là $350 \text{ m}^2/\text{g}$ và kích thước lỗ xốp là 10 nm.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 233 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl .

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải, các pic được rửa giải theo trình tự: ketoprofen và tạp chất A. Điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của 2 pic chính trên sắc đồ không dưới 50 % thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic ketoprofen và pic tạp chất A ít nhất là 7,0.

Tiêm lần lượt các dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Tiến hành chạy sắc ký dung dịch thử với khoảng thời gian gấp 7 lần thời gian lưu của pic ketoprofen.

Giới hạn:

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Diện tích của các pic tương ứng với pic tạp chất A và pic tạp chất C không được lớn hơn diện tích của các pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) và dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).

Diện tích của bất kỳ pic nào, ngoài pic chính, pic tạp chất A và tạp chất C, không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Tổng diện tích của tất cả các pic trừ pic chính và hai pic tạp chất A và C không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,4 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Ghi chú:

Tạp chất A: 1-(3-benzoylphenyl)ethanon.

Tạp chất C: Acid 3-[(1*RS*)-1-carboxyethyl]benzoic.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 2,0 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 60 °C; áp suất không quá 670 Pa).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 25 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 25 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* tương đương với 25,43 mg $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_3$.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống viêm, giảm đau.

Chế phẩm

Nang, gel.

NANG KETOPROFEN

Capsulae Ketoprofeni

Là nang cứng chứa ketoprofen.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ketoprofen, $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_3$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Là nang cứng, mặt nang nhẵn bóng, không méo mó, bột thuốc bên trong màu trắng đồng nhất.

Định tính

Chiết một lượng bột thuốc trong nang đã nghiền mịn tương ứng với 0,5 g ketoprofen với 50 ml *cloroform (TT)* trong 5 phút, lọc và bốc hơi dịch lọc trên cách thủy cho đến khi thu được cặn và kích thích tạo tinh thể bằng cách cọ liên tục thành của đồ đựng bằng đĩa thủy tinh. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của ketoprofen.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,5.

Cách pha dung dịch đệm phosphat pH 7,5: Hòa tan 1,46 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 20,06 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml, điều chỉnh tới pH 7,5 bằng *acid phosphoric (TT)* (nếu cần).

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan chế phẩm, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ ketoprofen khoảng 0,001 %. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này ở bước sóng cực đại 260 nm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính lượng ketoprofen, $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_3$, được hòa tan từ nang theo A (1 %, 1 cm), lấy 662 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại hấp thụ 260 nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng ketoprofen, $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg ketoprofen vào bình định mức 500 ml, thêm 300 ml *methanol* (TT), lắc khoảng 10 phút và thêm *methanol* 75 % đến định mức. Để yên, lấy chính xác 5,0 ml chất lỏng ở trên và pha loãng thành 100 ml bằng *methanol* 75 %. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở cực đại 258 nm, dùng *methanol* 75 % làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng ketoprofen, $C_{16}H_{14}O_3$, trong nang theo A (1 %, 1 cm). Lấy 662 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 258 nm.

Bảo quản

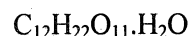
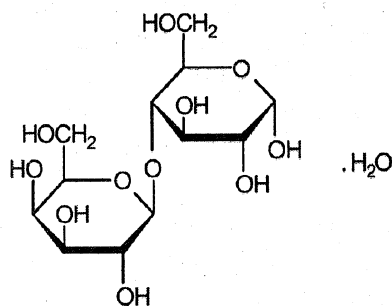
Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Thuốc kháng viêm, giảm đau.

Hàm lượng thường dùng

40 mg, 50 mg.

LACTOSE**Lactosum**

P.t.l: 360,3

Lactose là O-β-D-galactopyranosyl-(1 → 4)-α-D-glucopyranose monohydrat. Nó có thể bị thay đổi về tính chất vật lý và có thể chứa những tỷ lệ khác nhau của lactose vô định hình.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan nhưng tan chậm trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C, D.

Nhóm II: A, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của lactose chuẩn.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Nước - methanol - acid acetic khan - ethylen clorid (10 : 15 : 25 : 50) (cần đồng chính xác vì thừa một lượng nhỏ nước sẽ gây đục).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp nước - methanol (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg lactose chuẩn trong hỗn hợp nước - methanol (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg của mỗi chất chuẩn sau đây: fructose, glucose, lactose và sucrose trong hỗn hợp nước - methanol (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μl của mỗi dung dịch trên và sấy khô những điểm chấm tại đường xuất phát. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy khô bản mỏng bằng một luồng khí ẩm. Thay pha động mới, chạy nhắc lại bản mỏng ngay. Sấy bản mỏng bằng một luồng khí ẩm và phun đều lên bản mỏng dung dịch có chứa 0,5 g *thymol* (TT) trong hỗn hợp gồm 5 ml *acid sulfuric* (TT) và 95 ml *ethanol* 96 % (TT). Sấy bản mỏng ở 130 °C trong 10 phút. Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 4 vết tách rõ ràng.

C. Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong 5 ml nước. Thêm 5 ml *amoniac* (TT) và đun nóng trong nồi cách thủy ở 80 °C trong 10 phút, màu đỏ xuất hiện.

D. Phép thử phải đáp ứng yêu cầu về giới hạn nước (xem mục Nước).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước bằng cách đun nóng đến 50 °C và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi, để nguội. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VN₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 6,0 g chế phẩm bằng cách đun sôi trong 25 ml nước không có carbon dioxyd (TT), để nguội và thêm 0,3 ml dung dịch phenolphthalein (TT), dung dịch không màu. Không được dùng quá 0,4 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD) để làm chuyển màu chỉ thị thành màu hồng.

Góc quay cực riêng

Từ +54,4° đến +55,9°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong 80 ml nước bằng cách đun nóng đến 50 °C. Để nguội và thêm 0,2 ml dung

dịch amoniac loãng (TT). Để yên trong 30 phút và pha loãng đến 100,0 ml bằng nước để đo.

Độ hấp thụ

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước sôi và pha loãng thành 10,0 ml bằng nước (dung dịch A). Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch A được đo ở bước sóng 400 nm không được lớn hơn 0,04. Pha loãng 1,0 ml dung dịch A thành 10,0 ml bằng nước. Đo độ hấp thụ của dung dịch này từ 210 nm đến 300 nm. Tại những bước sóng từ 210 đến 220 nm, độ hấp thụ không được lớn hơn 0,25. Tại những bước sóng từ 270 nm đến 300 nm, độ hấp thụ không được lớn hơn 0,07.

Kim loại nặng

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 4,0 g chế phẩm trong nước nóng, thêm 1 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) và thêm nước vừa đủ 20 ml. Lấy 12 ml dung dịch trên thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Từ 4,5 % đến 5,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm và hỗn hợp formamid - methanol (1 : 2) làm dung môi.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9).

Thêm 1 ml acid sulfuric (TT) vào 1,0 g chế phẩm, bốc hơi đến khô trên cách thủy và nung đến khối lượng không đổi.

Độ nhiễm khuẩn

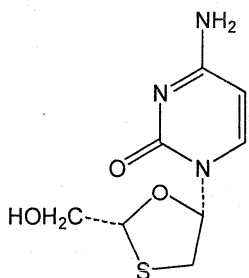
Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không được lớn hơn 100 trong 1 g, xác định bằng phương pháp đĩa thạch và không được có *E.coli* (Phụ lục 13.6).

Bảo quản

Đựng trong lọ kín.

LAMIVUDIN

Lamivudinum



$C_8H_{11}N_3O_3S$

P.t.l: 229,3

Lamivudin là (-)-1-[(2R,5S)-2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl]cystosin, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_8H_{11}N_3O_3S$ tính theo chế phẩm khan và không có dung môi.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, tan trong nước.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của lamivudin chuẩn.

B. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử ở phần thử giới hạn đồng phân phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với pic của lamivudin trên sắc ký đồ của dung dịch kiểm tra độ phân giải.

Độ hấp thụ ánh sáng

Đo độ hấp thụ của dung dịch chế phẩm trong nước có nồng độ 50,0 mg/ml tại bước sóng 440 nm trong cốc đo có độ dày 4 cm (Phụ lục 4.1). Tính độ hấp thụ riêng của chế phẩm bằng cách chia độ hấp thụ đo được cho nồng độ dung dịch (g/l) và chiều dày cốc đo (cm). Không được quá 0,0015.

Nước

Không được quá 0,2 % (Phụ lục 10.3).

Giới hạn đồng phân đối quang của lamivudin

Không được quá 0,3 %.

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch amoni acetat 0,1 M - methanol (95 : 5).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 25 mg chế phẩm hòa tan trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Hòa tan bột trong lọ hỗn hợp phân giải lamivudin A chuẩn với 5 ml nước. Chuyển dung dịch thu được sang bình định mức dung tích 10 ml, tráng lọ bằng 2 ml nước, chuyển vào bình định mức, thêm nước vừa đủ đến vạch và lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột phân tích (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh silica gel gắn beta cyclodextrin (5 μm). Nhiệt độ cột ở 20 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 270 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch phân giải, ghi lại sắc ký đồ. Thời gian lưu tương đối của pic đồng phân đối quang lamivudin so với lamivudin khoảng 1,2. Độ phân giải giữa hai pic ít nhất phải bằng 1,5.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, ghi lại sắc ký đồ.

Tính hàm lượng (%) của đồng phân đối quang lamivudin trong chế phẩm dựa trên diện tích pic tương ứng so với tổng diện tích các pic lamivudin và đồng phân đối quang lamivudin trên sắc ký đồ của dung dịch thử.

Dung môi tồn dư

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Cân chính xác khoảng 80 mg 2-pentanone (TT), cho vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm hỗn hợp gồm dimethyl sulfoxid - nước (1 : 1) vừa đủ đến vạch.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 5 g chế phẩm cho vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn nội, hòa tan trong hỗn hợp gồm dimethyl sulfoxid - nước (1 : 1), thêm hỗn hợp gồm dimethyl sulfoxid - nước (1 : 1) vừa đủ đến vạch.

Dung dịch đối chiếu: Cân chính xác khoảng 100 mg ethanol khan (TT), 100 mg isopropyl acetat (TT), 50 mg methanol (TT) và 50 mg triethylamin (TT) cho vào bình định mức dung tích 100 ml, pha loãng vừa đủ đến vạch với hỗn hợp gồm dimethyl sulfoxid - nước (1 : 1). Hút 10,0 ml dung dịch thu được cho vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn nội, thêm hỗn hợp gồm dimethyl sulfoxid - nước (1 : 1) đến vạch, trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột phân tích (50 m × 0,53 mm) được tráng pha tĩnh là dầu dimethylpolysiloxan với bề dày là 5 µm.

Khí mang hydro với áp suất 5 psi, đặt ở chế độ chia dòng.

Tốc độ dòng khí mang: 320 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa

Buồng tiêm đặt ở chế độ chia dòng, thể tích tiêm 0,5 µl.

Chương trình nhiệt độ: Nhiệt độ cột ban đầu ở 70 °C trong 3 phút, tăng dần nhiệt độ với tốc độ 30 °C trong phút tới 200 °C, duy trì nhiệt độ này trong 6,5 phút. Nhiệt độ buồng tiêm duy trì ở 150 °C và nhiệt độ detector duy trì ở 250 °C.

Cách tiến hành: Tiêm lần lượt dung dịch đối chiếu và dung dịch thử, ghi lại sắc ký đồ.

Tính toán hàm lượng của từng dung môi tồn dư trong chế phẩm dựa vào tỷ lệ diện tích pic đáp ứng giữa chất cần phân tích và chất chuẩn nội thu được từ dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Không được quá 0,2 % ethanol; 0,2 % isopropyl acetat; 0,1 % methanol và 0,1 % triethylamin. Tổng các dung môi không được quá 0,3 %.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Dung dịch amoni acetat 0,025 M, pha động, dung dịch phân giải và điều kiện sắc ký giống như phần Định lượng.

Dung dịch thử: Dung dịch thử ở phần Định lượng.

Dung dịch acid salicylic đối chiếu: Cân chính xác khoảng 25,0 mg acid salicylic (TT) hòa tan trong vừa đủ 100,0 ml pha động. Pha loãng từng bước để thu được dung dịch có nồng độ 0,25 µg/ml với pha động.

Cách tiến hành: Tiêm lần lượt 10 µl dung dịch acid salicylic đối chiếu và dung dịch thử, ghi lại sắc ký đồ.

Tính hàm lượng của acid salicylic dựa vào nồng độ acid salicylic, diện tích pic đáp ứng trên sắc ký đồ của

dung dịch đối chiếu và diện tích pic tương ứng với acid salicylic trên sắc ký đồ của dung dịch thử. Tính hàm lượng từng tạp chất khác dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử so với tổng diện tích các pic đáp ứng trên sắc đồ của dung dịch thử.

Hàm lượng acid salicylic không được quá 0,1 %; tạp chất có thời gian lưu tương đối so với lamivudin khoảng 0,4 không được quá 0,3 %; tạp chất có thời gian lưu tương đối so với lamivudin khoảng 0,9 không được quá 0,2 %. Từng tạp chất khác không được quá 0,1 % và tổng các tạp chất không được quá 0,6 %.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Dung dịch amoni acetat 0,025 M: Hòa tan 1,9 g amoni acetat (TT) trong 900 ml nước, điều chỉnh pH đến $3,8 \pm 0,2$ bằng acid acetic (TT), thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Pha động: Dung dịch amoni acetat 0,025 M - methanol (95 : 5), điều chỉnh nếu cần thiết.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 25,0 mg chế phẩm hòa tan trong pha động, pha loãng đến vừa đủ 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 25,0 mg lamivudin chuẩn hòa tan trong pha động, pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Hòa tan bột trong một lọ hỗn hợp phân giải lamivudin B chuẩn với 2 ml pha động.

Dung dịch acid salicylic: Cân acid salicylic (TT), hòa tan trong pha động và pha loãng từng bước để thu được dung dịch có nồng độ 60 µg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là octadecyl silica gel (5 µm). Nhiệt độ cột ở 35 °C. Detector tử ngoại đặt tại bước sóng 277 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch phân giải, ghi lại sắc ký đồ. Hệ số phân giải giữa lamivudin và đồng phân không đối quang của lamivudin (có thời gian lưu tương đối so với lamivudin khoảng 0,9) ít nhất phải bằng 1,5. Tiêm dung dịch chuẩn vào cột sắc ký, ghi lại sắc ký đồ. Độ lệch chuẩn tương đối diện tích pic của 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử với thời gian rửa giải ít nhất phải bằng thời gian lưu của acid salicylic. (Thời gian lưu của acid salicylic được xác định bằng cách tiêm dung dịch acid salicylic).

Tính hàm lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic đáp ứng thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và dựa vào hàm lượng $C_8H_{11}N_3O_3S$ của lamivudin chuẩn.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng virus.

Chế phẩm

Viên nén, lọ bột uống.

VIÊN NÉN LAMIVUDIN**Tabellae Lamivudini**

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa lamivudin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

Có thể chọn một trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: Phép thử A.

Nhóm II: Phép thử B và C.

A. Cân một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 50 mg lamivudin, thêm 20 ml *methanol* (TT), lắc để hòa tan và lọc. Bốc hơi dịch lọc dưới luồng khí nitơ cho đến khi thu được cặn. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của lamivudin hay với phổ của lamivudin chuẩn.

Nếu phổ thu được không phù hợp, lặp lại phép thử đối với lamivudin chuẩn bằng cách hòa tan lamivudin chuẩn trong *methanol* (TT) và bốc hơi đến khô dưới luồng khí nitơ.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄* dày 0,25 mm.

Dung môi khai triển: *Dicloromethan - acetonitril - methanol - amoniac đậm đặc* (67 : 20 : 10 : 3).

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg lamivudin với 50 ml *methanol* (TT), lọc và sử dụng dịch lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch của lamivudin chuẩn có nồng độ 1 mg/ml trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic lamivudin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp 5 thể tích *methanol* (TT) và 95 thể tích dung dịch đệm pH 3,8 (dung dịch 1,9 g/l của *amoni acetat* (TT) đã được điều chỉnh về pH 3,8 bằng *acid acetic* bằng (TT)).

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg lamivudin vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml pha động và lắc siêu âm để hòa tan. Pha loãng bằng pha động đến định mức và trộn đều. Lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử bằng pha động vừa đủ 100,0 ml. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch trên bằng pha động vừa đủ 10,0 ml.

Dung dịch kiểm tra độ thích hợp của hệ thống: Chuẩn bị dung dịch trong pha động có chứa 10 µg tạp lamivudin A và 200 µg lamivudin trong 1 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) được duy trì ở nhiệt độ 35 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 277 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch kiểm tra độ thích hợp của hệ thống, độ phân giải giữa hai pic tạp lamivudin A và lamivudin phải lớn hơn 1,5.

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch đối chiếu, dung dịch thử. Thời gian ghi sắc ký đồ của dung dịch thử gấp 3 lần thời gian lưu của lamivudin. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào trừ pic chính đều không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,3 %), không có quá 1 pic có diện tích lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %), không có quá 2 pic có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %) và tổng diện tích của tất cả các pic trừ pic chính không được lớn hơn 6 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,6 %). Loại bỏ các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng lamivudin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,020 %.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg lamivudin vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml pha động và lắc siêu âm để hòa tan. Pha loãng bằng pha động đến định mức và trộn đều. Lọc qua giấy lọc và bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc bằng pha động vừa đủ 25 ml.

Pha động và điều kiện sắc ký thực hiện như nêu trong phần Tạp chất liên quan.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic lamivudin trong 6 lần tiến lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của $C_8H_{11}N_3O_3S$ trong lamivudin chuẩn.

Bảo quản

Trong vi nhôm hay trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng virus.

Hàm lượng thường dùng

150 mg và 300 mg.

LANOLIN KHAN

Lanolinum anhydricum

Lanolin khan là chất giống như sáp, khan, tinh khiết, thu được từ lông của loài cừu (*Ovis aries*), có chứa không quá 200 phần triệu butylhydroxytoluen.

Tính chất

Chất nhờn màu vàng, có mùi đặc trưng. Khi chảy lỏng cho chất lỏng màu vàng, trong hoặc gần như trong. Thực tế không tan trong nước, khó tan trong ethanol sôi. Trong ether dầu hòa cho dung dịch đục.

Định tính

A. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *dicloromethan* (TT) và thêm 1 ml *anhydrid acetic* (TT) và 0,1 ml *acid sulfuric* (TT), màu xanh lục sẽ xuất hiện.

B. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml *dicloromethan* (TT), thêm 5 ml *acid sulfuric* (TT) và lắc. Màu đỏ xuất hiện và có huỳnh quang màu xanh đậm ở lớp dưới khi quan sát dưới ánh sáng thường với nguồn sáng rọi từ phía sau người quan sát.

Chất acid - kiểm tan trong nước

Đun chảy 5,0 g chế phẩm trên nồi cách thủy và lắc mạnh trong 2 phút với 75 ml *nước* đã được đun nóng

trước đến 90 °C đến 95 °C. Để nguội và lọc qua giấy lọc đã được rửa trước bằng *nước*. Thêm 0,25 ml *dung dịch xanh bromothymol* (TT) vào 60 ml dịch lọc (dịch lọc có thể không được trong). Màu của chỉ thị phải thay đổi khi cho thêm không được quá 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric* 0,02 M (CD) hoặc 0,15 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,02 M (CD).

Điểm nhỏ giọt

Từ 38 °C đến 44 °C (Phụ lục 6.7, phương pháp 4).

Làm đầy chế phẩm trong cốc kim loại bằng cách đun chảy chế phẩm trên nồi cách thủy, để nguội đến khoảng 50 °C, rót vào cốc và để yên ở 15 °C đến 20 °C trong 24 giờ.

Khả năng hút nước

Chuyển 10 g chế phẩm đã được làm nóng chảy vào một cái cối và để nguội đến nhiệt độ phòng. Thêm từng lượng *nước* một, mỗi lần từ 0,2 ml đến 0,5 ml *nước* bằng buret, khuấy mạnh sau mỗi lần thêm để dung nạp hết lượng *nước* thêm vào. Điểm kết thúc đạt được khi quan sát thấy những giọt *nước* còn lưu lại không thể bị dung nạp tiếp. Lượng *nước* tiêu thụ không được ít hơn 20 ml.

Chỉ số acid

Không được quá 1,0 (Phụ lục 7.2).

Xác định trên 5,0 g chế phẩm và được hòa tan trong 25 ml hỗn hợp dung môi.

Chỉ số peroxyd

Không được quá 20 (Phụ lục 7.6, phương pháp A).

Trước khi thêm 0,5 ml *dung dịch kali iodid bão hòa* (TT), làm nguội dung dịch thu được đến nhiệt độ phòng.

Chỉ số xà phòng hóa

Từ 90 đến 105 (Phụ lục 7.7).

Xác định trên 2,00 g chế phẩm. Đun nóng dưới ống sinh hàn ngược trong 4 giờ.

Chất dễ oxy hóa tan trong nước

Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric* 10 % (TT) và 0,1 ml *dung dịch kali permanganat* 0,02 M (CD) vào 10 ml dịch lọc thu được ở mục chất acid - kiểm tan trong nước. Sau 10 phút, màu của dung dịch không được biến mất hoàn toàn.

Butylhydroxytoluen

Không được quá 0,02 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch nội chuẩn: Hòa tan 0,2 g *methyl decanoat* (TT) trong *carbon disulfid* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch trên thành 10,0 ml bằng *carbon disulfid* (TT).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *carbon disulfid* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *carbon disulfid* (TT), thêm 1,0 ml dung dịch nội chuẩn và pha loãng thành 10,0 ml bằng *carbon disulfid* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,2 g *butylhydroxytoluen* (TT) trong *carbon disulfid* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch trên thành 10,0 ml bằng *carbon disulfid* (TT). Thêm 1,0 ml dung dịch nội chuẩn vào 1,0 ml dung dịch trên và pha loãng thành 10,0 ml bằng *carbon disulfid* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột (1,5 m × 4 mm) được nhồi diatomit đã silan hóa dùng cho sắc ký khí và được tẩm 10 % (kl/kl) *polydimethylsiloxan* (TT); cột này được đặt sau một cột có chứa bông thủy tinh đã silan hóa.

Khí mang: Nitrogen dùng cho sắc ký khí, lưu lượng 40 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ: Duy trì nhiệt độ cột ở 150 °C, nhiệt độ của buồng tiêm ở 180 °C và nhiệt độ của detector ở 300 °C.

Cách tiến hành:

Tiêm thể tích đã lựa chọn các dung dịch thử (1), dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu.

Parafin

Không được quá 1,0 %.

Chú ý: Các vòi, khóa và dụng cụ dùng trong phép thử không được có dầu mỡ. Chuẩn bị cột nhôm oxyd khan có chiều dài 230 mm và đường kính 20 mm bằng cách thêm hỗn hợp nhôm oxyd khan (TT) và ether dầu hỏa có độ sôi từ 40 °C đến 60 °C (TT) vào ống thủy tinh có van khóa và chứa ether dầu hỏa có khoảng sôi từ 40 °C đến 60 °C (TT) (Trước khi dùng, loại nước của nhôm oxyd khan bằng cách nung ở 600 °C trong 3 giờ). Để lắng và làm giảm chiều dài của lớp dung môi ở phía trên cột còn khoảng 40 mm. Hòa tan 3,0 g chế phẩm trong 50 ml ether dầu hỏa có khoảng sôi từ 40 °C đến 60 °C (TT) ấm, làm nguội, cho dung dịch trên qua cột ở tốc độ 3 ml trong phút và rửa với 250 ml ether dầu hỏa có khoảng sôi từ 40 °C đến 60 °C (TT). Làm đậm đặc dịch rửa giải và nước rửa đến khi thu được một khối cặn nhão bằng cách cất, bốc hơi đến khô trên nồi cách thủy và sấy cặn ở 105 °C trong những chu kỳ thời gian 10 phút cho tới khi khối lượng thu được giữa hai lần cân không khác nhau quá 1 mg. Khối lượng cặn không được quá 30 mg.

Clorid

Không được quá 0,015 %.

Đun sôi 1,0 g chế phẩm với 20 ml *ethanol* 90 % (TT) trong một bình cầu đáy tròn dưới ống sinh hàn ngược trong 5 phút. Để nguội và thêm 40 ml nước; 0,5 ml *acid nitric* (TT), lọc. Thêm 0,15 ml *dung dịch bạc nitrat* 1 % trong *ethanol* 90 % vào dịch lọc. Để yên trong 5 phút, tránh ánh sáng. Dung dịch này không được đục hơn dung dịch đối chiếu được chuẩn bị

trong cùng một thời gian bằng cách thêm 0,15 ml *dung dịch bạc nitrat* 1 % trong *ethanol* 90 % vào hỗn hợp gồm 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric* 0,02 M (CĐ), 20 ml *ethanol* 90 % (TT), 40 ml nước và 0,5 ml *acid nitric* (TT).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 1 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,15 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Đốt 5,0 g chế phẩm và dùng cân để xác định tro sulfat.

Bảo quản

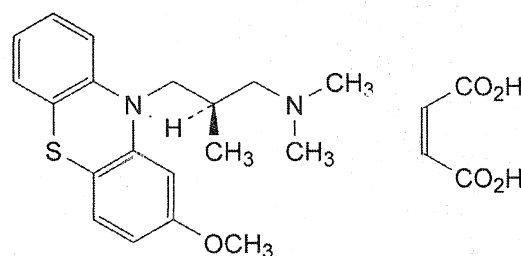
Bảo quản ở nhiệt độ không quá 25 °C.

Nhãn

Phải quy định trường hợp sử dụng, nồng độ chất *butylhydroxytoluen* được thêm vào.

LEVOMEPRMAZIN MALEAT

Levomepromazini maleas



$C_{19}H_{24}N_2OS \cdot C_4H_4O_4$

P.t.l: 444,6

Levomepromazin maleat là (2*R*)-3-(2-methoxy-10*H*-phenothiazin-10-yl)-*N,N*,2-trimethylpropan-1-amin-(*Z*)-butendioat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{19}H_{24}N_2OS \cdot C_4H_4O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay vàng nhạt, khó tan trong nước và *ethanol* 96 %, hơi tan trong methylen clorid, thực tế không tan trong ether.

Đễ bị phân hủy khi tiếp xúc với không khí và ánh sáng, chảy ở nhiệt độ khoảng 186 °C kèm theo phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của levomepromazin maleat chuẩn.

B. Góc quay cực riêng: Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tiến hành tránh ánh sáng.

Bản mỏng: Chất mang là kieselguhr G. Thấm khô bản mỏng bằng cách để vào trong bình có sẵn một lớp mỏng dung dịch có chứa 2-phenoxyethanol 10 % và polyethylen glycol 300 5,0 % trong acetone, sao cho bản mỏng ngập trong dung môi khoảng 5 mm, sau đó để dung môi thấm dần lên khoảng 17 cm. Lấy bản mỏng ra và tiến hành sắc ký ngay lập tức.

Pha động: Lắc hỗn hợp gồm 100 thể tích ether dầu hỏa (nhiệt độ sôi 50 °C đến 70 °C), 2 thể tích diethylamin (TT) và 6 đến 8 thể tích 2-phenoxyethanol (TT) cho đến khi thấy vẫn đục bền vững, gạn và sử dụng lớp phía trên mặc dù có vẫn đục.

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm 0,2 % trong cloroform (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch levomepromazin chứa 0,2 % trong cloroform (TT).

Cách tiến hành: Tiến hành chạy sắc ký giống như chuẩn bị bản mỏng. Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm trong một vài phút. Vết trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc, huỳnh quang và kích thước với vết thu được từ dung dịch đối chiếu. Phun lên bản mỏng dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol, màu của vết thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải giống nhau, và cùng giữ nguyên màu trong vòng 20 phút sau khi phun.

D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Nước - acid formic khan - diisopropyl ether (3 : 7 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong 10 ml hỗn hợp nước - acetone (10 : 90).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg acid maleic chuẩn trong 10 ml hỗn hợp nước - acetone (10 : 90).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên thành dải có kích thước 10 mm × 2 mm. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được hơn 12 cm, để khô bản mỏng ngoài không khí. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 120 °C trong 10 phút và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có một dải ở vạch xuất phát và phải có một dải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, và kích thước.

pH

Lắc 0,50 g chế phẩm với 25,0 ml nước không có carbon dioxyd (TT) và để lắng. pH của phần dung dịch phía trên phải từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2). Tiến hành phép thử trong điều kiện tránh ánh sáng.

Góc quay cực riêng

Từ -7,0° đến -8,5° tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4). Dung dịch được chuẩn bị bằng cách hòa tan 1,25 g chế phẩm trong dimethylformamid (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Tiến hành phép thử trong điều kiện tránh ánh sáng.

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Acetone - diethylamin - cyclohexan (10 : 10 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong 10 ml hỗn hợp nước - acetone (10 : 90).

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng hỗn hợp nước - acetone (10 : 90).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được hơn 15 cm, để khô bản mỏng ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Bất kỳ vết thứ hai nào thu được ngoài vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C ; 3 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,350 g chế phẩm trong 50 ml acid acetic khan (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 44,46 mg C₂₃H₂₈N₂O₅S.

Bảo quản

Đựng trong chai lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc dùng trong các bệnh loạn thần.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc tiêm.

VIỀN NÉN LEVOMEPRMAZIN

Tabellae Levomepromazini

Là viên nén chứa levomepromazin maleat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng levomepromazin maleat,
 $C_{19}H_{24}N_2OS.C_4H_4O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với
lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 50 mg levomepromazin maleat, thêm 10 ml nước và 2 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), lắc đều. Chiết với 15 ml ether (TT) và để yên cho tách lớp. Rửa lớp ether bằng 5 ml nước, lọc qua giấy lọc có natri sulfat khan (TT), bay hơi dịch chiết ether đến khô rồi sấy cần ở 100 °C trong 3 giờ. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cần thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của levomepromazin.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel F_{254} .

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid formic khan - nước (90 : 7 : 3).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên chứa 0,2 g levomepromazin maleat, thêm 10 ml hỗn hợp aceton - nước (9 : 1), lắc siêu âm trong 5 phút, để yên và lấy dịch trong ở phía trên.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch acid maleic chuẩn 0,6 % trong acid formic khan (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra sấy ở 120 °C trong 10 phút. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ thu được, dung dịch thử có một vết tại điểm chấm sắc ký và một vết tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Bản mỏng: Silica gel GF_{254} .

Dung môi khai triển: Toluene - aceton - diethylamin (85 : 10 : 5).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g levomepromazin maleat, thêm 10 ml hỗn hợp methanol - amoniac 18M (99 : 1), lắc siêu âm 5 phút, lọc, bỏ dịch lọc đầu.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 200 lần dung dịch thử bằng cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được đậm hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Không tính đến các vết tại điểm chấm sắc ký.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường: 500 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) để có nồng độ khoảng 0,005 % levomepromazin maleat. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 311 nm, cốc đo dày 1cm, mẫu trắng là dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT). So sánh với một dung dịch chuẩn levomepromazin maleat có nồng độ tương đương trong cùng dung môi. Tính hàm lượng levomepromazin maleat đã hòa tan dựa vào nồng độ levomepromazin maleat trong dung dịch chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 60 % lượng levomepromazin maleat, $C_{19}H_{24}N_2OS.C_4H_4O_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 50 mg levomepromazin maleat, thêm 15 ml dung dịch amoniac 0,2 M trong methanol (TT), lắc trong 2 phút, lọc lấy dịch lọc. Tiếp tục chiết 3 lần, mỗi lần với 15 ml dung dịch amoniac 0,2 M trong methanol (TT), dùng đĩa thủy tinh nghiền cần trước mỗi lần chiết. Tập hợp dịch lọc và thêm dung dịch amoniac 0,2 M trong methanol (TT) vừa đủ 100,0 ml. Pha loãng 10 thể tích dung dịch thu được thành 100 thể tích bằng methanol (TT). Tiếp tục pha loãng 10 thể tích dung dịch này thành 100 thể tích bằng methanol (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 254 nm, mẫu trắng là methanol (TT). Song song tiến hành đo dung dịch levomepromazin maleat chuẩn 0,0005 % trong dung dịch amoniac 0,002 M trong methanol (TT). Tính hàm lượng levomepromazin maleat, $C_{19}H_{24}N_2OS.C_4H_4O_4$, có trong viên dựa vào hàm lượng $C_{19}H_{24}N_2OS.C_4H_4O_4$ trong levomepromazin maleat chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

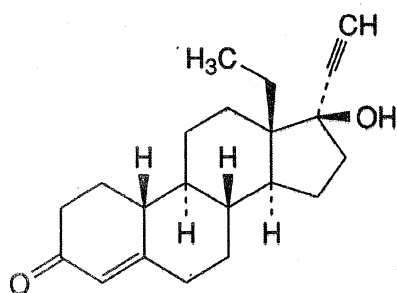
An thần.

Hàm lượng thường dùng

25 mg.

LEVONORGESTREL

Levonorgestrelum



$C_{21}H_{28}O_2$

P.t.l: 312,5

Levonorgestrel là 13 β -ethyl-17 β -hydroxy-18,19-dinor-17 α -pregn-4-en-20-yn-3-on, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{21}H_{28}O_2$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, thực tế không tan trong nước, hơi tan trong methylen clorid, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

- Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của levonorgestrel chuẩn.
- Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực riêng.

Góc quay cực riêng

Từ -30° đến -35° (Phụ lục 6.4), tính theo chế phẩm đã làm khô.

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong cloroform (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G đã được hoạt hóa ở 100 °C trong 15 phút.

Dung môi khai triển: Methylen clorid - ethyl acetat (80 : 20).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong cloroform (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng methylen clorid (TT). Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng methylen clorid (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 4,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng methylen clorid (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg levonorgestrel chuẩn và 5 mg ethinylestradiol chuẩn trong methylen clorid (TT) và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch, triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí. Phun bản mỏng với dung dịch acid phosphomolybdic (TT) 10 % trong ethanol 96 %, sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 15 phút và kiểm tra ngay. Bắt kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %) và không được có quá hai vết phụ đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho hai vết tách ra rõ ràng.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 45 ml tetrahydrofuran (TT), thêm 10 ml dung dịch bạc nitrat 10 % (TT). Sau một phút, chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ), xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song làm mẫu trắng.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) tương đương với 31,25 mg $C_{21}H_{28}O_2$.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Gestagen.

Chế phẩm

Viên nén levonorgestrel, viên nén phối hợp levonorgestrel và ethinylestradiol.

VIÊN NÉN LEVONORGESTREL

Tabellae Levonorgestreli

Là viên nén chứa levonorgestrel.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng levonorgestrel, $C_{21}H_{28}O_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng, cạnh và thành viên lảnh lặn.

Định tính

A. Trong phần Độ đồng đều hàm lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic levonorgestrel trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi triển khai: Methylen clorid - ethyl acetat (80 : 20).

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn có chứa khoảng 5 mg levonorgestrel với 10 ml cloroform (TT), lọc. Pha loãng 2 ml dịch lọc thành 10 ml với methylen clorid (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 0,01 % levonorgestrel trong methylen clorid (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng để khô ngoài không khí và phun dung dịch acid phosphomolybdic 10 % trong ethanol 96 % (TT), sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 15 phút. Quan sát dưới ánh sáng thường ngay sau khi phun thuốc thử.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có hình dạng, màu sắc và R_f phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - acetonitril - nước (100 : 240 : 500).

Dung dịch thử: Thêm 10 ml hỗn hợp đồng thể tích methanol (TT) và nước vào một lượng bột viên có chứa khoảng 0,36 mg levonorgestrel, lắc siêu âm trong 30 phút, khuấy kỹ trong 15 phút, ly tâm và sử dụng phần dung dịch ở phía trên, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml với hỗn hợp đồng thể tích methanol (TT) và nước.

Dung dịch thử độ phân giải: Dung dịch có chứa ethinylestradiol chuẩn 0,004 % và levonorgestrel chuẩn 0,004 % trong hỗn hợp đồng thể tích methanol (TT) và nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 μ m) (Cột Spherisorb ODS 2 là thích hợp).

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 200 μ l.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Cách tiến hành:

Với mỗi dung dịch, tiến hành sắc ký với thời gian gấp đôi thời gian lưu của levonorgestrel.

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch thử độ phân giải, hệ số phân giải giữa hai pic ethinylestradiol và levonorgestrel ít nhất là 12.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1 %) và tổng diện tích của các pic phụ đó không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2 %).

Độ đồng đều hàm lượng

Tiến hành theo phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - nước (50 : 50).

Dung dịch thử: Thêm 5,0 ml pha động vào một viên chế phẩm, hòa tan bằng siêu âm trong 45 phút (cách khoảng 15 phút lại lắc trộn đều), ly tâm và dùng lớp dung dịch phía trên.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch levonorgestrel pha trong pha động có nồng độ tương đương với dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (12,5 cm $\times$ 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 μ m) (Cột Hypersil ODS là thích hợp).

Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Thể tích tiêm: 25 μ l.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng levonorgestrel, $C_{21}H_{28}O_2$, trong viên dựa vào diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{21}H_{28}O_2$ trong levonorgestrel chuẩn.

Định lượng

Sử dụng kết quả trung bình của 10 lần định lượng trong phép thử độ đồng đều hàm lượng.

Bảo quản

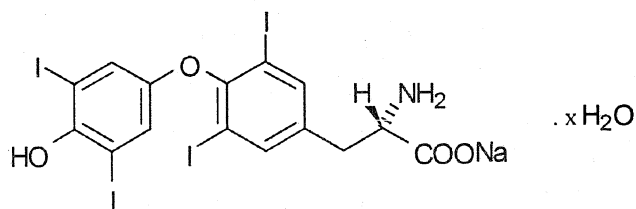
Chế phẩm đựng trong lọ nút kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Gestagen.

Hàm lượng thường dùng

0,030 mg, 0,75 mg.

LEVOTHYROXIN NATRI**Levothyroxinum natricum**C₁₅H₁₀I₄NNaO₄.xH₂O

P.t.l: 799,0 (dạng khan)

Levothyroxin natri là natri (2S)-2-amino-3-[4-(4-hydroxy-3,5-diiodophenoxy)-3,5-diiodophenyl]propanoat, có chứa một lượng nước kết tinh thay đổi, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % C₁₅H₁₀I₄NNaO₄, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột gần như trắng hoặc vàng nâu nhạt hoặc là bột kết tinh mịn, có màu nhạt.

Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, tan được trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, E.

Nhóm II: A, C, D, E.

A. Chế phẩm phải đạt yêu cầu qui định trong phép thử "Góc quay cực riêng".

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của levothyroxin natri chuẩn.

C. Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 13,5 M - propan-2-ol - ethyl acetat (20 : 35 : 55).

Dung dịch thử: Hòa tan 5 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung dịch amoniac 13,5 M - methanol (5 : 70) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg levothyroxin natri chuẩn trong hỗn hợp dung dịch amoniac 13,5 M - methanol (5 : 70) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg liothyronin natri chuẩn trong hỗn hợp dung dịch amoniac 13,5 M - methanol (5 : 70) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Trộn 1 ml dung dịch này với 1 ml dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng trong không khí và phun dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT). Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C, cho tới khi các vết xuất

hiện. Quan sát dưới ánh sáng thường. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 2 vết tách biệt rõ ràng.

D. Cho khoảng 50 mg chế phẩm vào một chén sứ, thêm vài giọt dung dịch acid sulfuric đậm đặc (TT) và đun nóng, hơi màu tím bay lên.

E. Thêm 2 ml dung dịch acid sulfuric 10 % (TT) vào 200 mg chế phẩm. Đun nóng trên cách thủy rồi sau đó đốt cẩn thận trên ngọn lửa, tăng dần nhiệt độ cho tới khoảng 600 °C. Tiếp tục nung cho tới khi gần như không còn các tiểu phân màu đen. Hòa tan cẩn trong 2 ml nước. Dung dịch thu được phải cho phản ứng (A) của natri (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 23 ml hỗn hợp đang sôi nhẹ gồm 1 thể tích dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT) và 4 thể tích ethanol 96 % (TT). Để nguội và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch S mới pha không được có màu đậm hơn màu mẫu VN₃ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ +16° đến +20°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S để đo.

Liothyronin và các tạp chất liên quan khác

Kiểm tra sắc ký đồ thu được ở phần Định lượng. Trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1), diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với liothyronin không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %) và tổng diện tích của tất cả các pic ngoài pic chính và pic tương ứng với liothyronin không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %). Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4)

Mất khối lượng do làm khô

Từ 6,0 % đến 12,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,100 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Bảo quản các dung dịch tránh ánh sáng trong suốt quá trình định lượng.

Pha động: Acid phosphoric - acetonitril - nước (1 : 300 : 700).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong dung dịch natri hydroxyd 0,01 M trong methanol và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử (1) thành 200,0 ml bằng dung dịch natri hydroxyd 0,01 M trong methanol.

Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan 20,0 mg levothyroxin chuẩn trong dung dịch natri hydroxyd 0,01 M trong methanol và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 200,0 ml bằng dung dịch natri hydroxyd 0,01 M trong methanol.

Dung dịch chuẩn (2): Hòa tan 5 mg liothyronin natri chuẩn trong dung dịch natri hydroxyd 0,01 M trong methanol (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng dung dịch natri hydroxyd 0,01 M trong methanol (TT). Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung dịch natri hydroxyd 0,01 M trong methanol (TT).

Dung dịch chuẩn (3): Trộn đồng thể tích dung dịch chuẩn (1) và dung dịch chuẩn (2).

Dung dịch chuẩn (4): Pha loãng 1 ml dung dịch chuẩn (1) thành 10 ml bằng dung dịch natri hydroxyd 0,01 M trong methanol (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh là nitril silica gel (5 µm đến 10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm sắc ký các dung dịch trên. Ghi sắc ký đồ với khoảng thời gian gấp 3,5 lần thời gian lưu của pic chính. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với levothyroxin và liothyronin trong sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn (3) ít nhất bằng 4 và pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn (4) phải có tỷ số giữa tín hiệu trên nhiều đường nền không được nhỏ hơn 5.

Tính hàm lượng phần trăm $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ có trong chế phẩm theo công thức sau:

$$\frac{S_u}{0,972S_r} \times C_r$$

Trong đó:

S_u là diện tích của pic tương ứng với levothyroxin, trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2);

S_r là diện tích của pic tương ứng với levothyroxin trong sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn (1);

C_r là hàm lượng $C_{15}H_{11}I_4NO_4$ của levothyroxin chuẩn.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc

Hormon tuyến giáp.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN LEVOTHYROXIN

Tabellae Levothyroxini

Là viên nén chứa levothyroxin natri.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng levothyroxin natri, $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Trong phần định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic levothyroxin natri trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 0,5 mg levothyroxin natri khan, thêm hỗn hợp 3 ml ethanol 50 % (TT) và 0,2 ml acid hydrochloric (TT), đun sôi nhẹ trong 30 giây. Để nguội, lọc, thêm vào dịch lọc 0,1 ml dung dịch natri nitrit 10 % (TT) và đun sôi, xuất hiện màu vàng. Để nguội và kiểm hóa bằng dung dịch amoniac 5 M (TT), dung dịch có màu cam.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký tiến hành như mục Định lượng.

Dung dịch thử: Lấy một viên, thêm dung dịch natri hydroxyd 0,05 M để thu được dung dịch có nồng độ levothyroxin natri khan khoảng 6 µg/ml, lắc siêu âm đến khi viên phân tán hoàn toàn. Để nguội và lắc 2 phút, thêm dung dịch natri hydroxyd 0,05 M vừa đủ để có nồng độ khoảng 0,0004 % levothyroxin natri khan.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch levothyroxin natri chuẩn 0,0004 % trong dung dịch natri hydroxyd 0,05 M.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - acetonitril - acid phosphoric (70 : 30 : 0,5).

Dung môi hòa mẫu: Hỗn hợp đồng thể tích methanol (TT) và dung dịch natri hydroxyd 0,1 M.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên. Với viên hàm lượng levothyroxin natri khan dưới 50 µg, phân tán một lượng bột viên tương đương 50 µg levothyroxin natri khan bằng cách lắc siêu âm 10 phút với 8 ml dung môi hòa mẫu. Tiếp tục lắc 2 phút, để nguội và thêm dung môi hòa mẫu vừa đủ 10,0 ml, lọc.

Với viên hàm lượng levothyroxin natri khan bằng hoặc trên 50 µg, phân tán một lượng bột viên tương đương 0,1 mg levothyroxin natri khan bằng cách lắc siêu âm 10 phút với 8 ml dung môi hòa mẫu. Tiếp tục lắc 2 phút, để nguội và thêm dung môi hòa mẫu vừa đủ 10,0 ml, lọc.

Dung dịch chuẩn: Với viên hàm lượng levothyroxin natri khan dưới 50 µg, dùng dung dịch chứa 0,0005 % levothyroxin natri chuẩn trong dung môi hòa mẫu.

Với viên hàm lượng levothyroxin natri khan bằng hoặc trên 50 µg, dùng dung dịch chứa 0,001 % levothyroxin natri chuẩn trong dung môi hòa mẫu.

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 0,0005 % liothyronin chuẩn và 0,0005 % levothyroxin natri chuẩn trong dung môi hòa mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh nitril silica gel (5 µm) (cột Nucleosil 5 CN là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, phép định lượng chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic chính trên sắc ký đồ thu được ít nhất bằng 4.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng levothyroxin natri, C₁₅H₁₀I₄NNaO₄, trong viên dựa vào diện tích các pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng C₁₅H₁₀I₄NNaO₄ trong levothyroxin natri chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

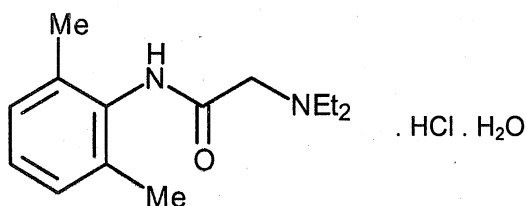
Hormon tuyến giáp.

Hàm lượng

50 µg, 100 µg.

LIDOCAIN HYDROCLORID

Lidocaini hydrochloridum



C₁₄H₂₂N₂O.HCl.H₂O

P.t.l: 288,8

Lidocain hydroclorid là 2-(diethylamino)-N-(2,6-dimethylphenyl)acetamid hydroclorid monohydrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % C₁₄H₂₂N₂O.HCl, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng. Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, F.

Nhóm II: B, C, D, E, F.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của lidocain hydroclorid chuẩn.

B. Điểm chảy: 74 °C đến 79 °C (Phụ lục 6.7), xác định với chế phẩm chưa được sấy khô trước.

C. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 10 ml nước, thêm 10 ml dung dịch bão hòa acid picric (TT), tua tạo thành. Rửa tua bằng nước, sấy khô. Điểm chảy của tua ở khoảng 230 °C (Phụ lục 6.7).

D. Lấy khoảng 5 mg chế phẩm, thêm 0,5 ml acid nitric bốc khói (TT). Bốc hơi đến khô trên cách thủy, để nguội. Hòa tan cẩn trọng 5 ml aceton (TT), thêm 1 ml dung dịch kali hydroxyd 0,1 M trong ethanol (TT), dung dịch có màu xanh lục.

E. Hút 5 ml dung dịch S, thêm 5 ml nước rồi kiểm hóa bằng dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT). Lọc, rửa tua bằng nước. Hòa tan một nửa lượng tua trong 1 ml ethanol 96 % (TT), thêm 0,5 ml dung dịch cobalt (II) nitrat 10 % (TT), tua màu xanh tạo thành.

F. Cho phản ứng đặc trưng của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) để được 20,0 ml dung dịch.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Pha loãng 1,0 ml dung dịch S bằng nước không có carbon dioxyd (TT) thành 10,0 ml. pH của dung dịch này từ 4,0 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất A (2,6 - dimethylanilin)

Dung dịch (a): Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong methanol (TT), thêm cùng dung môi vừa đủ 10 ml.

Dung dịch (b): Hòa tan 50 mg 2,6-dimethylanilin (TT) trong methanol (TT), thêm cùng dung môi vừa đủ 100 ml. Hút 1 ml dung dịch, thêm methanol (TT) vừa đủ 100 ml.

Sử dụng 3 ống thủy tinh đáy bằng, hút 2 ml dung dịch (a) vào ống thứ nhất, hút 1 ml dung dịch (b) và 1 ml methanol (TT) vào ống thứ 2 (dung dịch đối

chiếu), hút 2 ml *methanol* (TT) vào ống thứ 3 (mẫu trắng). Thêm vào mỗi ống trên 1 ml *dung dịch dimethylaminobenzaldehyd 1 % trong methanol* (TT) vừa mới pha và 2 ml *acid acetic băng* (TT), để yên ở nhiệt độ phòng khoảng 10 phút. Màu vàng của dung dịch thử không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu (100 ppm).

Kim loại nặng

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* vừa đủ 25 ml, lọc. Dùng 10 ml dịch lọc thu được trong lần lọc đầu tiên, tiến hành theo phương pháp 5. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Từ 5,5 % đến 7,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,250 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 30 ml *acid acetic khan* (TT), thêm 6 ml *dung dịch thủy ngân (II) acetat* (TT) và tiến hành chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ), dùng 0,05 ml *dung dịch tím tinh thể* (TT) làm chỉ thị. Tiến hành song song mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 27,08 mg $C_{14}H_{22}N_2O.HCl$.

Bảo quản

Bảo quản trong chai lọ nút thật kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc gây tê tại chỗ, thuốc chống loạn nhịp tim.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, gel.

THUỐC TIÊM LIDOCAIN

Injectio Lidocaini

Thuốc tiêm lidocain là dung dịch vô khuẩn của lidocain hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng lidocain hydroclorid, $C_{14}H_{22}N_2O.HCl.H_2O$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

A. Lấy một thể tích chế phẩm tương đương 0,1 g lidocain hydroclorid, kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 5 M* (TT). Lọc lấy tủa, rửa tủa bằng *nước*. Hòa tan tủa trong 1 ml *ethanol 96 %* (TT), thêm 0,5 ml *dung dịch cobalt (II) clorid 10 %* và lắc 2 phút. Xuất hiện tủa màu xanh.

B. Lấy một thể tích chế phẩm chứa 0,1 g lidocain hydroclorid, thêm 10 ml *dung dịch bão hòa acid picric* (TT). Lọc lấy tủa, rửa bằng *nước*, sấy khô ở 105 °C, nhiệt độ nóng chảy của tủa khoảng 230 °C ± 1 °C (Phụ lục 6.7).

C. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

4,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

2,6-Dimethylanilin

Lấy một thể tích chế phẩm có chứa 25 mg lidocain hydroclorid, thêm *nước* thành 10 ml, kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT) rồi chiết bằng *cloroform* (TT) 4 lần, mỗi lần 5 ml, mỗi lần đều lọc qua cùng một phễu có *natri sulfat khan* (TT). Dịch chiết cloroform được bốc hơi dưới áp suất giảm (2 kPa). Hòa lẫn trong 2 ml *methanol* (TT), thêm 1 ml *dung dịch 4-dimethylamino benzaldehyd 1 % trong methanol* (TT) và 2 ml *acid acetic băng* (TT), để yên ở nhiệt độ phòng 10 phút. Song song tiến hành một mẫu đối chiếu, thay chế phẩm bằng 10 ml *dung dịch đối chiếu 2,6-dimethylanilin* (TT) (1 µg/ml) trong *nước*. Màu vàng của mẫu thử không được đậm hơn màu của mẫu đối chiếu.

Định lượng

Lấy chính xác một thể tích chế phẩm chứa khoảng 0,1 g lidocain hydroclorid, kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT), chiết 3 lần, mỗi lần với 20 ml *cloroform* (TT), rửa mỗi dịch chiết với cùng một lượng 10 ml *nước*, lọc dịch chiết qua giấy lọc đã thấm ướt với *cloroform* (TT), rửa giấy lọc bằng 10 ml *cloroform* (TT). Tập trung toàn bộ dịch rửa và dịch lọc. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,02 N* (CĐ), dùng *dung dịch tím tinh thể* (TT) làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,02 N* (CĐ) tương đương với 5,776 mg $C_{14}H_{22}N_2O.HCl.H_2O$.

***Bảo quản**

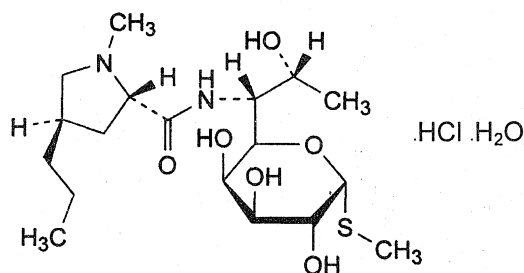
Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc tê, thuốc chống loạn nhịp.

Hàm lượng

0,5 %, 1 %, 2 %, 4 %, 10 %, 20 %.

LINCOMYCIN HYDROCLORID***Lincomycini hydrochloridum*** $C_{18}H_{34}N_2O_6S \cdot HCl \cdot H_2O$

P.t.l: 461,0

Lincomycin hydroclorid chủ yếu là methyl 6,8-di-deoxy-6-[[[(2S,4R)-1-methyl-4-propylpyrrolidin-2-yl]carbonyl]amino]-1-thio-D-erythro-α-D-galacto-octopyranosid hydroclorid, kháng sinh thu được từ nuôi cấy chủng *Streptomyces lincolnensis* var. *lincolnensis* hoặc được điều chế bằng các phương pháp khác. Chế phẩm phải chứa không ít hơn 790 μg $C_{18}H_{34}N_2O_6S$ trong 1 mg.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong acetone.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phương pháp quang phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2). Phổ hồng ngoại của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của lincomycin hydroclorid chuẩn.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel G.

Dùng môi khai triển: Hỗn hợp gồm 20 thể tích 2-propanol (TT), 40 thể tích dung dịch amoni acetat 15 % đã điều chỉnh pH đến 9,6 bằng amoniac (TT) và 45 thể tích ethyl acetat (TT). Lắc kỹ, để yên cho tách lớp, lấy lớp trên làm dung môi khai triển.

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 10 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg lincomycin hydroclorid chuẩn trong 10 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg lincomycin hydroclorid chuẩn và 10 mg clindamycin hydroclorid chuẩn trong 10 ml methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được hơn 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí, phun dung dịch kali permanganat 0,1 % (TT). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch

đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) tách ra hai vết rõ ràng.

C. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 2 ml dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT). Đun nóng trong cách thủy 3 phút. Thêm 3 ml dung dịch natri carbonat 10,6 % và 1 ml dung dịch natri nitroprusiat 2 % (TT), màu đỏ tím tạo thành.

D. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml nước, dung dịch thu được phải cho phản ứng (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 20 ml nước không có carbon dioxyl (TT).

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V₆ (Phụ lục 9.3; phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S phải từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Phải từ +135° đến +150°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Lincomycin B

Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích pic tương ứng với lincomycin B không được lớn hơn 5 % tổng diện tích các pic của lincomycin và lincomycin B.

Kim loại nặng

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 1,0 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Từ 3,1 % đến 4,6 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn

Phải đạt quy định (Phụ lục 13.7), nếu chế phẩm được dùng để pha thuốc tiêm mà không áp dụng các biện pháp tiệt trùng thích hợp.

Nội độc tố vi khuẩn

Phải ít hơn 0,50 EU/mg (Phụ lục 13.2), nếu chế phẩm được dùng để pha thuốc tiêm mà không áp dụng các biện pháp loại bỏ nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch đệm pH 6,0 - acetonitril - methanol (78 : 15 : 15).

Dung dịch đệm pH 6,0: Thêm 13,5 ml acid phosphoric (TT) vào 1000 ml nước, trộn đều. Điều chỉnh pH về 6,0 bằng amoniac (TT).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 24,0 mg chế phẩm hòa tan trong pha động bằng cách lắc cơ học trong 5 phút hoặc lắc siêu âm nếu cần và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Cân chính xác khoảng 24,0 mg lincomycin hydroclorid chuẩn hòa tan trong pha động bằng cách lắc cơ học trong 5 phút hoặc lắc siêu âm nếu cần và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).

Nhiệt độ cột: 46 °C.

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký.

Tiêm dung dịch đối chiếu. Thời gian lưu tương đối của lincomycin B khoảng 0,5 và của lincomycin là 1,0. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic lincomycin không được quá 1,3 và hiệu suất của cột đối với lincomycin không nhỏ hơn 4000 đĩa lý thuyết. Độ lệch chuẩn tương đối diện tích pic của lincomycin trong các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiêm lần lượt dung dịch đối chiếu và dung dịch thử.

Tính hàm lượng lincomycin, $C_{18}H_{34}N_2O_6S$, trong chế phẩm (µg/mg) dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch đối chiếu, dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{34}N_2O_6S$ của lincomycin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín và nhiệt độ không quá 30 °C. Nếu chế phẩm là vô khuẩn, bảo quản trong bao bì vô khuẩn, đảm bảo và kín.

Nhãn

Phải ghi rõ nếu chế phẩm không có nội độc tố vi khuẩn hay vô khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Thuốc nang, thuốc tiêm.

NANG LINCOMYCIN

Capsulae Lincomycini

Là nang cứng chứa lincomycin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng lincomycin, $C_{18}H_{34}N_2O_6S$, từ 90,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang nhãn bóng, không méo mó, bột thuốc bên trong màu trắng đồng nhất.

Định tính

A. Chiết một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 0,2 g lincomycin hydroclorid bằng 5 ml hỗn hợp cloroform - methanol (4 : 1), lọc và bốc hơi dịch lọc cho đến khi thu được cặn dạng dầu. Hòa tan cặn trong 1 ml nước rồi thêm aceton (TT) cho tới khi bắt đầu xuất hiện tủa, thêm tiếp 20 ml aceton (TT) nữa. Lọc lấy tủa. Rửa tủa hai lần, mỗi lần với 10 ml aceton (TT). Hòa tan tủa trong một lượng nhỏ hỗn hợp cloroform - methanol (4 : 1) rồi bốc hơi đến khô. Sấy cặn thu được ở 60 °C dưới áp suất không quá 2 kPa trong 4 giờ. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của lincomycin hydroclorid.

B. Trong phần định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic lincomycin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Lincomycin B

Trong phần định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử thu được, diện tích của pic lincomycin B (được xác định là pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic được rửa giải ngay trước pic lincomycin trong sắc ký đồ của dung dịch chuẩn) không được lớn hơn 5 % tổng diện tích của pic lincomycin B và pic lincomycin.

Nước

Không quá 7,0 % (Phụ lục 10.3).

Lấy 0,3 g bột thuốc.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch đệm pH 6,0 - acetonitril - methanol (780 : 150 : 150). Có thể điều chỉnh tỷ lệ dung môi nếu cần.

Dung dịch đệm pH 6,0: Thêm 13,5 ml acid phosphoric (TT) vào 1000 ml nước rồi điều chỉnh đến pH 6,0 bằng amoniac (TT).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch lincomycin hydroclorid chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 1,2 mg/ml trong pha động. Có thể lắc siêu âm nếu cần để dễ hòa tan.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều và nghiền mịn nếu cần. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg lincomycin cho vào một bình định mức 50 ml. Thêm khoảng 40 ml pha động, lắc kỹ trong 10 phút với sự trợ giúp của siêu âm nếu cần. Thêm pha động đến định mức, trộn đều và lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 μm hoặc 10 μm) (Lichrosorb RP8 là thích hợp).

Nhiệt độ cột: 46 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng thu được từ pic chính lincomycin không lớn hơn 1,3; hiệu lực cột xác định trên pic chính lincomycin không ít hơn 4 000 đĩa lý thuyết; độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng lincomycin, $C_{18}H_{34}N_2O_6S$, trong nang dựa vào diện tích pic lincomycin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{34}N_2O_6S$ trong lincomycin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để ở nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng trực tiếp.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg (tính theo lincomycin).

THUỐC TIÊM LINCOMYCIN

Injectio Lincomycini

Là dung dịch vô khuẩn của lincomycin hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm có thể chứa các chất ổn định.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng của lincomycin, $C_{18}H_{34}N_2O_6S$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu hoặc gần như không màu.

Định tính

A. Thêm *aceton* (TT) vào một thể tích chế phẩm có chứa khoảng 0,2 g lincomycin hydroclorid đến khi xuất hiện tủa, thêm tiếp 20 ml *aceton* (TT). Lọc lấy tủa, rửa tủa hai lần mỗi lần với 10 ml *aceton* (TT). Hòa tan tủa trong một lượng tối thiểu hỗn hợp *cloroform* - *methanol* (4 : 1). Làm bay hơi dung môi

đến khô và sấy căn ở 60 °C dưới áp suất không quá 2 kPa trong 4 giờ. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của căn thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của lincomycin hydroclorid.

B. Trong phần định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính lincomycin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH

Từ 3,0 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Lincomycin B

Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic lincomycin B (được xác định là pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic được rửa giải ngay trước pic lincomycin trong sắc ký đồ của dung dịch chuẩn) không được lớn hơn 5 % tổng diện tích của pic lincomycin B và pic lincomycin.

Nội độc tố vi khuẩn

Tiến hành theo phép thử Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2). Pha loãng thuốc tiêm nếu cần với nước BET để thu được dung dịch có chứa 10 mg lincomycin trong 1 ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 5,0 IU/ml. Giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký và cách tiến hành thực hiện theo chỉ dẫn trong phần Định lượng của chuyên luận "Nang lincomycin".

Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích thuốc tiêm tương đương với khoảng 500 mg lincomycin cho vào bình định mức 50 ml, pha loãng với pha động đến định mức. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch thu được pha loãng với pha động thành 50,0 ml.

Bảo quản

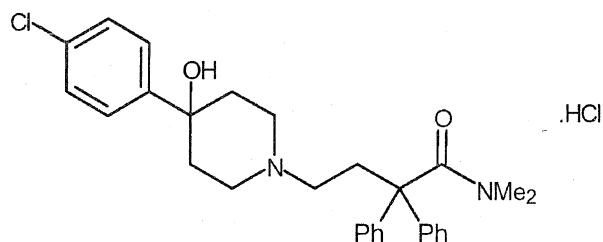
Thuốc tiêm lincomycin phải được bảo quản ở nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Dạng thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

300 mg/2 ml; 600 mg/2 ml (tính theo lincomycin).

LOPERAMID HYDROCLORID***Loperamidi hydrochloridum***C₂₉H₃₃ClN₂O₂.HCl

P.t.l: 513,5

Loperamid hydroclorid là 4-[4-(4-clorophenyl)-4-hydro-xypiperidin-1-yl]-N,N-dimethyl-2,2-diphenylbutanamid hydroclorid, phải chứa từ 99,0% đến 101,0% C₂₉H₃₃ClN₂O₂.HCl, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng. Ít tan trong nước, dễ tan trong methanol và ethanol 96 %.

Điểm chảy khoảng 225 °C, kèm theo phân hủy.

Định tính

Chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của loperamid hydroclorid chuẩn. Nếu hai phổ đo được không phù hợp, hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong một lượng nhỏ *methylen clorid* (TT), bốc hơi các dung dịch tới khô, ghi phổ của các cặn thu được.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoni acetat - dioxan - methanol (20 : 40 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 30 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30 mg loperamid hydroclorid chuẩn trong pha động và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 30 mg loperamid hydroclorid chuẩn và 30 mg ketoconazol chuẩn trong pha động và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm, lấy bản mỏng ra, làm khô bản mỏng bằng luồng không khí mát trong 15 phút và hiện màu bằng hơi iod cho đến khi các vết xuất hiện. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí, màu sắc và kích thước tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc

ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 2 vết tách biệt rõ ràng.

C. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 0,4 ml *amoniac* (TT) và 2 ml *nước*, trộn đều. Để yên 5 phút và lọc. Acid hóa dịch lọc bằng *dung dịch acid nitric loãng* (TT). Dung dịch thu được phải cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu VN₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp *acetonitril* - *dung dịch tetrabutylamoni hydrosulfat* 1,7 % (1 : 9) thay đổi tỉ lệ theo chương trình gradient tuyến tính để sau 10 phút đạt được hỗn hợp dung môi có tỷ lệ *acetonitril* - *dung dịch tetrabutylamoni hydrosulfat* 1,7 % (7 : 3), rửa giải tiếp 5 phút với hỗn hợp dung môi ở tỷ lệ này.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2,5 mg loperamid hydroclorid chuẩn và 2,5 mg haloperidol chuẩn trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *methanol* (TT). Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml bằng *methanol* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm) được nhồi octadecylsilyl silica gel (3 µm).

Dectector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Ổn định cột ít nhất 30 phút bằng *acetonitril* (TT) và sau đó bằng thành phần pha động ban đầu ít nhất 5 phút.

Điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu từ 70 % đến 90 % của thang đo.

Tiêm dung dịch phân giải: Trên sắc ký đồ thu được: thời gian lưu của haloperidol khoảng 3 phút, của loperamid hydroclorid khoảng 4,5 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với haloperidol và loperamid hydroclorid không được nhỏ hơn 8,0. Nếu cần, điều chỉnh nồng độ cuối cùng của acetonitril trong pha động hoặc điều chỉnh điều kiện sắc ký trong chương trình gradient dung môi.

Tiêm riêng biệt *methanol* (TT) (mẫu trắng), dung dịch thử, và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: Diện tích của bất kỳ pic nào, ngoài pic chính, không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,25 %); tổng diện tích của tất cả các pic, ngoài pic chính, không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Bỏ qua pic của *methanol* và các pic có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol* 96 % (TT), thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrochloric* 0,01 M (CD). Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (CD). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd* thêm vào giữa hai điểm uốn. 1 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (CD) tương đương với 51,35 mg $C_{29}H_{34}Cl_2N_2O_2$

Bảo quản

Bảo quản tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống ỉa chảy.

Chế phẩm

Thuốc nang, viên nén.

NANG LOPERAMID

Capsulae Loperamidi

Là nang cứng chứa loperamid hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nang” (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng loperamid hydroclorid, $C_{29}H_{33}ClN_2O_2.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng, bột thuốc trong nang màu trắng.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính loperamid hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - acid formic* (85 : 10 : 5).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc có chứa khoảng 10 mg loperamid hydroclorid với 10 ml *methanol* (TT) trong 5 phút và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Chứa loperamid hydroclorid chuẩn với nồng độ khoảng 10 mg/ml pha trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm 10 µl dung dịch thử và 1 µl dung dịch chuẩn lên bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ngoài không khí, sau đó cho vào bình hơi iod đến khi hiện vết và quan sát. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng vị trí với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Môi trường hòa tan: 500 ml dung dịch đệm acetat pH 4,7.

Cách pha dung dịch đệm acetat pH 4,7: Thêm 200 ml *dung dịch acid acetic* 1 M (TT) vào 600 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,70 ± 0,05 bằng *dung dịch natri hydroxyd* 1 M (TT), pha loãng tới 1000 ml bằng *nước*.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký và cách tiến hành thực hiện theo chỉ dẫn trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan chế phẩm, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch loperamid hydroclorid chuẩn có nồng độ tương đương dung dịch thử, pha trong môi trường hòa tan.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % lượng loperamid hydroclorid, $C_{29}H_{33}ClN_2O_2.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Độ đồng đều hàm lượng

Phải đáp ứng yêu cầu về phép thử Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2).

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn và điều kiện sắc ký theo chỉ dẫn trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Cho lượng thuốc trong 1 nang vào bình định mức 10 ml, thêm 3,5 ml *dung dịch acid hydrochloric* 0,5 M (TT), lắc siêu âm 15 phút. Thêm 3,5 ml *acetonitril* (TT) rồi lắc siêu âm thêm 15 phút nữa. Sau đó thêm hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril* (TT) và *dung dịch acid hydrochloric* 0,5 M (TT) đến định mức, trộn đều và lọc. Lấy chính xác 5,0 ml dịch

lọc, pha loãng bằng hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril* (TT) và *nước* tới thể tích 100,0 ml, trộn đều và lọc.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Lấy 500 ml *acetonitril* (TT) pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*, thêm 20 giọt *acid phosphoric* (TT), lắc đều. Điều chỉnh nếu cần.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột chế phẩm tương ứng với khoảng 20 mg loperamid hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 35 ml *dung dịch acid hydrocloric* 0,5 M (TT), lắc siêu âm 15 phút. Thêm 35 ml *acetonitril* (TT) và lắc siêu âm thêm 15 phút nữa. Sau đó pha loãng bằng hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril* và *dung dịch acid hydrocloric* 0,5 M (TT) đến định mức. Trộn đều và lọc. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc pha loãng bằng hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril* (TT) và *nước* thành 100 ml, trộn đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg loperamid hydroclorid chuẩn, hòa tan trong hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril* (TT) và *dung dịch acid hydrocloric* 0,5 M (TT) vừa đủ 250 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril* (TT) và *nước*, trộn đều (dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 10 µg/ml).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh silica gel được biến đổi hóa học gắn với nhóm nitril (Cyano), kích thước hạt 10 µm.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột phải không nhỏ hơn 1900; hệ số dung lượng không nhỏ hơn 3,5 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic loperamid hydroclorid trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng loperamid hydroclorid, $C_{29}H_{33}ClN_2O_2.HCl$, trong một nang dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{29}H_{33}ClN_2O_2.HCl$ trong loperamid hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

Thuốc trị ỉa chảy.

Hàm lượng thường dùng

2 mg (tính theo loperamid hydroclorid).

VIÊN NÉN LOPERAMID

Tabellae Loperamidi

Là viên nén chứa loperamid hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng loperamid hydroclorid, $C_{29}H_{33}ClN_2O_2.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Trong phần định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic loperamid hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Lấy một lượng bột viên tương ứng khoảng 10 mg loperamid hydroclorid cho vào ống nghiệm, thêm 20 ml *isopropanol* (TT). Lắc trong 1 phút. Để lắng, lấy 9,0 ml dung dịch phía trên, thêm 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric* 0,1 M (TT), trộn đều. Đo phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này trong khoảng bước sóng 250 nm đến 300 nm, phổ hấp thụ tử ngoại phải có cực đại và cực tiểu giống như phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch loperamid hydroclorid chuẩn được tiến hành tương tự.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4).

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric* 0,01 M (TT).

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động và điều kiện sắc ký thực hiện theo chỉ dẫn trong phần Định lượng.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Dung dịch thử. Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan chế phẩm, lọc, bỏ dịch lọc đầu.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch loperamid hydroclorid chuẩn có nồng độ tương tự như dung dịch thử, pha trong môi trường hòa tan.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % lượng loperamid hydroclorid, $C_{29}H_{33}ClN_2O_2.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Độ đồng đều hàm lượng

Phải đáp ứng yêu cầu về phép thử Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2).

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn và điều kiện sắc ký và cách tiến hành thực hiện theo chỉ dẫn trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Cho 1 viên thuốc vào bình định mức 200 ml, thêm 4 ml *dung dịch acid phosphoric 5 % (TT)* và 20 ml *methanol (TT)*, lắc cho tan rồi thêm nước đến định mức, trộn đều, lọc.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - *dung dịch đệm* (45 : 55). Có thể điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

Dung dịch đệm: Hòa tan 3,0 g triethylamin hydroclorid (TT) và 1 ml acid phosphoric (TT) trong 550 ml nước.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 8 mg loperamid hydroclorid vào bình định mức 1000 ml, thêm 20 ml *dung dịch acid phosphoric 5 % (TT)* và 100 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 30 phút. Pha loãng bằng nước vừa đủ thể tích.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg loperamid hydroclorid chuẩn hòa tan trong nước vừa đủ 250,0 ml. Lấy chính xác 10,0 ml dung dịch này cho vào bình định mức 250 ml, thêm 5 ml *dung dịch acid phosphoric 5 % (TT)*, 25 ml *methanol (TT)* và thêm nước đến định mức, trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (8 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại, đặt ở bước sóng 214 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic loperamid hydroclorid phải không lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

Tính hàm lượng loperamid hydroclorid, $C_{29}H_{33}ClN_2O_2.HCl$, trong một viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{29}H_{33}ClN_2O_2.HCl$ trong loperamid hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

Thuốc trị ỉa chảy.

Hàm lượng thường dùng

2 mg, tính theo loperamid hydroclorid.

CÁC MACROGOL**Macrogola**

Hỗn hợp các polymer có công thức chung $H-(OCH_2-CH_2)_n-OH$ trong đó n là số lượng trung bình các nhóm oxyethylen. Các macrogol được phân loại theo số chỉ khối lượng phân tử trung bình. Trong chế phẩm có thể có chứa chất bảo quản.

Tính chất

Loại	Hình thức	Độ tan
300 400 600	Chất lỏng hút ẩm, trong suốt, nhớt, không màu hoặc gần như không màu.	Trộn lẫn với nước, rất dễ tan trong aceton, ethanol 96 %, methylen clorid, thực tế không tan trong dầu béo, dầu khoáng.
1000	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, hút ẩm, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong methylen clorid, ethanol 96 % thực tế không tan trong dầu béo, dầu khoáng.
1500	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, methylen clorid, thực tế không tan trong dầu béo, dầu khoáng.
3000 3350	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, methylen clorid, hơi tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong dầu béo, dầu khoáng.
4000 6000 8000	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, methylen clorid, thực tế không tan trong ethanol 96 %, dầu béo, dầu khoáng.
20 000 35 000	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, tan trong methylen clorid, thực tế không tan trong ethanol 96 %, dầu béo, dầu khoáng.

Định tính

A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Độ nhớt (Phụ lục 6.3).

B. Thêm 0,5 ml *acid sulfuric* (TT) vào ống nghiệm có chứa 1 g chế phẩm. Đậy ống nghiệm bằng nút có gắn ống dẫn khí, đun nóng cho đến khi có khói trắng tạo thành. Dẫn khói vào 1 ml *dung dịch thủy ngân clorid* (TT). Xuất hiện tủa kết tinh màu trắng.

C. Thêm 0,1 g *kali thiocyanat* (TT) và 0,1 g *cobalt nitrat* (TT) vào 0,1 g chế phẩm, dùng đũa thủy tinh trộn đều. Thêm 5 ml *methylen clorid* (TT) và lắc. Pha lỏng trở nên màu xanh.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 12,5 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 50 ml bằng nước. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 50 ml nước không có carbon dioxyd (TT) và thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromothymol* (TT), dung dịch có màu vàng hay xanh lá. Không được dùng quá 0,1 ml *natri hydroxyd* 0,1 M (CD) để làm chuyển màu chỉ thị sang xanh dương.

Độ nhớt

Độ nhớt được tính dựa trên tỷ trọng theo bảng dưới đây:

Loại macrogol	Độ nhớt động học (mm ² .s ⁻¹)	Độ nhớt động lực học (mPa.s)	Tỷ trọng* (g/ml)
300	71 – 94	80 – 105	1,120
400	94 – 116	105 – 130	1,120
600	13,9 – 18,5	15 – 20	1,080
1000	20,4 – 27,7	22 – 30	1,080
1500	31 – 46	34 – 50	1,080
3000	69 – 93	75 – 100	1,080
3350	76 – 110	83 – 120	1,080
4000	102 – 158	110 – 170	1,080
6000	185 – 250	200 – 270	1,080
8000	240 – 472	260 – 510	1,080
20 000	2500 – 3200	2700 – 3500	1,080
35 000	10 000 – 13 000	11 000 – 14 000	1,080

* Tỷ trọng của các macrogol 300 và 400 xác định trực tiếp trên chế phẩm. Với các macrogol khác: tỷ trọng của dung dịch chế phẩm 50 % (kl/kl).

Với các macrogol có khối lượng phân tử trung bình lớn hơn 400 xác định độ nhớt trên dung dịch chế phẩm 50 % (kl/kl).

Nhiệt độ đông đặc (Phụ lục 6.6)

Loại macrogol	Nhiệt độ đông đặc (°C)
600	15 – 25
1000	35 – 40
1500	42 – 48
3000	50 – 56
3350	53 – 57
4000	53 – 59
6000	55 – 61
8000	55 – 62
20 000	Tối thiểu 57
35 000	Tối thiểu 57

Chỉ số hydroxyl

Cho m (g) chế phẩm (ghi ở bảng dưới) vào bình nón khô có gắn ống sinh hàn hồi lưu. Thêm 25,0 ml *dung dịch anhydrid phtalic* (TT), lắc nhẹ để hòa tan, sau đó đun hồi lưu trong 60 phút. Để nguội. Rửa sinh hàn bằng 25 ml *pyridin* (TT), và 25 ml nước cất. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd* 1 M (CD), chỉ thị là 1,5 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT) đến khi xuất hiện màu hồng (n₁ ml). Tiến hành song song mẫu trắng (n₂ ml). Chỉ số hydroxyl của chế phẩm được tính bằng công thức:

$$56,1 \times (n_2 - n_1) / m$$

Loại macrogol	Chỉ số hydroxyl	m (g)
300	340 – 394	1,5
400	264 – 300	1,9
600	178 – 197	3,5
1000	107 – 118	5,0
1500	70 – 80	7,0
3000	34 – 42	12,0
3350	30 – 38	12,0
4000	25 – 32	14,0
6000	16 – 22	18,0
8000	12 – 16	24,0
20 000	-	-
35 000	-	-

Với các macrogol có khối lượng phân tử trên 1000, nếu lượng nước nhiều hơn 0,5 % thì phải sấy chế phẩm ở 100 °C đến 105 °C trong 2 giờ và xác định chỉ số hydroxyl trên chế phẩm đã làm khô.

Chất khử

Hòa tan 1 g chế phẩm trong 1 ml *dung dịch resorcinol* 1 %, làm ấm nhẹ nếu cần. Thêm 2 ml *acid hydrocloric* (TT). Sau 5 phút, dung dịch không được đậm màu hơn mẫu Đ₃ (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Formaldehyd

Không được quá 30 phần triệu.

Dung dịch thử: Thêm 0,25 ml *dung dịch muối natri của acid cromotropic (TT)* vào 1,00 g chế phẩm. Làm lạnh trong nước đá và thêm 5 ml *acid sulfuric (TT)*. Để yên 15 phút, thêm *nước* từ từ vừa đủ 10 ml.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,860 g *dung dịch formaldehyd (TT)* đến 100 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này tới 100 ml với *nước*. Trong bình định mức 10 ml, trộn 1,00 ml dung dịch này với 0,25 ml *dung dịch muối natri của acid cromotropic (TT)*, làm lạnh trong nước đá và thêm 5 ml *acid sulfuric (TT)*. Để yên 15 phút và thêm *nước* từ từ vừa đủ 10 ml.

Mẫu trắng: Trong bình định mức 10 ml trộn 1 ml *nước* với 0,25 ml *dung dịch muối natri của acid cromotropic (TT)* làm lạnh trong nước đá và thêm 5,0 ml *acid sulfuric (TT)*. Thêm *nước* từ từ vừa đủ 10 ml.

Xác định độ hấp thụ của dung dịch thử ở 567 nm. Độ hấp thụ này không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

Việc dùng các macrogol có lượng formaldehyd cao có thể gây ra tác dụng phụ nên nhà chức trách có thể qui định không vượt quá 15 phần triệu.

Ethylen glycol và diethylen glycol

Chỉ tiến hành với các macrogol có khối lượng phân tử dưới 1000.

Không được quá 0,4 %, tính trên tổng lượng ethylen glycol và diethylen glycol.

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Hòa tan 5,00 g chế phẩm trong *acetone (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,10 g *ethylen glycol (TT)* và 0,50 g *diethylen glycol (TT)* trong *acetone (TT)*, pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch pha loãng thành 10,0 ml bằng *acetone (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (1,8 m × 2 mm) được nhồi diatomit được silan hóa dùng cho sắc ký khí và được tẩm 5 % kl/kl *macrogol 20 000 (TT)*.

Khí mang: Nitrogen dùng cho sắc ký.

Tốc độ dòng: 30 ml/min.

Nhiệt độ:

Cột: Làm nóng cột trước ở 200 °C (nếu cần) khoảng 15 giờ; điều chỉnh nhiệt độ ban đầu của cột để thời gian lưu của diethylen glycol là 14 phút đến 16 phút; sau đó tăng nhiệt độ cột lên khoảng 30 °C với tốc độ 2 °C/min nhưng không vượt quá 170 °C.

Buồng tiêm và detector: 250 °C

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm : 2 µl

Tiến hành 5 lần tiêm mẫu để kiểm tra độ lặp lại.

Ethylen oxyd và dioxan

Không được quá 1 phần triệu ethylen oxyd và không được quá 10 phần triệu dioxan (Phụ lục 10.15).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 2,0 % với các macrogol có khối lượng phân tử không lớn hơn 1000 và không được quá 1,0 % với các macrogol có khối lượng phân tử lớn hơn 1000. Dùng 2,00 g chế phẩm (Phụ lục 10.3).

Tro sulfat

Không được quá 0,2 %. Dùng 1,0 g chế phẩm (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Bảo quản

Đựng trong bình kín, tránh ánh sáng.

Nhãn

Ghi rõ loại macrogol, nồng độ chất bảo quản, lượng formaldehyd.

Loại thuốc

Tá dược.

MAGNESI CARBONAT NẶNG

Magnesii subcarbonas ponderosus

Magnesi carbonat nặng là magnesi carbonat hydrat base, phải chứa từ 40,0 % đến 45,0 % MgO.

Tính chất

Bột trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong acid loãng đồng thời sủi bọt mạnh.

Định tính

A. 15 g chế phẩm chiếm thể tích khoảng 30 ml.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng của carbonat (Phụ lục 8.1).

C. Hòa tan khoảng 15 mg chế phẩm trong 2 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Dung dịch này phải cho phản ứng của ion magnesi (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*, khi hết sủi bọt đun sôi 2 phút, để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*. Lọc qua phễu sứ có lỗ xốp thích hợp đã nung đến khối lượng không đổi ở 600 °C và xác định bi trước để được dung dịch trong. Cẩn để thử chất không tan trong acid acetic.

Dung dịch S không được có màu đậm hơn màu mẫu N₄ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chất tan trong nước

Không được quá 1,0 %.

Trộn 2,00 g chế phẩm với 100 ml nước, đun sôi 5 phút, lọc khi còn nóng qua phễu thủy tinh xốp (số độ xốp 40) để nguội, pha loãng dịch lọc với nước thành 100 ml. Bốc hơi 50 ml dịch lọc đến khô, cân thu được sấy ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cân còn lại không được quá 10 mg.

Chất không tan trong acid acetic

Không được quá 0,05 %.

Cân thu được trong quá trình chuẩn bị dung dịch S, sau khi rửa, sấy và nung ở 600 °C đến khối lượng không đổi không được quá 2,5 mg.

Clorid

Không được quá 0,07 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 1,5 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,6 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 0,5 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Arsen

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 10 ml dung dịch S rồi tiến hành thử theo phương pháp A.

Calci

Không được quá 0,75% (Phụ lục 9.4.3).

Pha loãng 2,6 ml dung dịch S với nước thành 150 ml.

Lấy 15 ml dung dịch này để thử.

Sắt

Không được quá 400 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 3 ml dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT), pha loãng với nước thành 10 ml. Lấy 2,5 ml dung dịch này pha loãng với nước thành 10 ml để thử.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Thêm 15 ml dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT) vào 20 ml dung dịch S và lắc với 25 ml methyl isobutyl keton (TT) trong 2 phút. Để tách lớp, lấy lớp nước bốc hơi đến khô trên cách thủy. Hòa tan cặn trong 1 ml dung dịch acid acetic 5 M (TT) và thêm nước vừa đủ 20 ml. Lấy 12 ml dung dịch này để thử theo phương pháp 1.

Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml nước và 2 ml dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ) theo Phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

1 ml dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ) tương đương với 4,030 mg MgO.

Bảo quản

Trong lọ nút kín.

MAGNESI CARBONAT NHẸ

Magnesii subcarbonas levis

Magnesi carbonat nhẹ là magnesi carbonat hydrat base phải chứa từ 40,0 % đến 45,0 % MgO.

Tính chất

Bột trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong acid loãng đồng thời sủi bọt mạnh.

Định tính

A. 15 g chế phẩm chiếm thể tích khoảng 180 ml.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng của carbonat (Phụ lục 8.1).

C. Hòa tan khoảng 15 mg chế phẩm trong 2 ml dung dịch acid nitric 2 M (TT) và trung hòa bằng dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT). Dung dịch này phải cho phản ứng của ion magnesi (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch, chất tan trong nước, chất không tan trong acid acetic, clorid, arsen, calci, sắt, kim loại nặng

Phải tuân theo các yêu cầu và phương pháp thử như đã mô tả ở chuyên luận "Magnesi carbonat nặng".

Sulfat

Không được quá 0,3 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 1,0 ml dung dịch S, pha loãng thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Định lượng

Tiến hành như mô tả ở mục định lượng ở chuyên luận "Magnesi carbonat nặng".

Bảo quản

Trong chai lọ nút kín.

MAGNESI CLORID

Magnesii chloridum

Magnesi clorid hexahydrat

$MgCl_2 \cdot 6H_2O$

P.t.l: 203,3

Magnesi clorid hexahydrat phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $MgCl_2 \cdot 6H_2O$.

Tính chất

Tinh thể không màu, dễ hút ẩm.

Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Chế phẩm phải đạt yêu cầu của phép thử Nước.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng định tính (A) của ion clorid và cho phản ứng định tính của ion magnesi (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ phenol* (TT) vào 5 ml dung dịch S. Không được dùng quá 0,3 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (CD) hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M* (CD) để làm thay đổi màu của chỉ thị.

Bromid

Không được quá 0,05 %.

Pha loãng 2,0 ml dung dịch S thành 10,0 ml bằng nước. Thêm 4,0 ml nước, 2,0 ml *dung dịch đỏ phenol* (TT) và 1,0 ml *dung dịch cloramin T 0,02 %* (TT) vào 1,0 ml dung dịch trên, trộn đều ngay. Sau đúng 2 phút, thêm 0,30 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M*, trộn đều và pha loãng thành 10,0 ml bằng nước. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên được đo ở bước sóng 590 nm, dùng nước làm mẫu trắng, không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu, được chuẩn bị trong cùng thời gian và cùng một phương pháp, dùng 5,0 ml dung dịch kali bromid 0,0003 %.

Sulfat

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 15 ml dung dịch S và tiến hành thử.

Arsen

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp A.

Calci

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.3).

Pha loãng 1,0 ml dung dịch S thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành thử theo phương pháp 1.

Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 10 ml dung dịch S và tiến hành thử.

Nhôm

Nếu chế phẩm được dự định dùng để sản xuất dung dịch thẩm tích màng bụng, dung dịch thẩm tích máu

hoặc dung dịch lọc máu thì phải đáp ứng yêu cầu thử giới hạn nhôm.

Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.9).

Dung dịch thử: Hòa tan 4 g chế phẩm trong 100 ml nước và thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hỗn hợp gồm 2,0 ml *dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu* (TT), 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0* (TT) và 98 ml nước.

Dung dịch mẫu trắng: Hỗn hợp gồm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0* (TT) và 100 ml nước.

Kali

Nếu chế phẩm được dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm thì phải đáp ứng yêu cầu thử giới hạn kali.

Không được quá 0,05 %.

Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan trong nước 1,144 g *kali clorid* (TT) đã được sấy khô trước ở 100 °C đến 105 °C trong 3 giờ và pha loãng thành 1000,0 ml bằng cùng dung môi (600 µg K/ml).

Pha loãng theo yêu cầu.

Đo cường độ phát xạ của các dung dịch ở 766,5 nm.

Nước

Từ 51,0 % đến 55,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 50,0 mg chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 50 ml nước. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M* (CD) theo Phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M* (CD) tương đương với 20,33 mg $MgCl_2 \cdot 6H_2O$.

Bảo quản

Trong lọ kín.

Nhãn

Trên nhãn phải ghi rõ mục đích sử dụng của chế phẩm dùng trong sản xuất dung dịch thẩm tích màng bụng, dung dịch thẩm tích máu, dung dịch lọc máu hoặc dùng trong sản xuất thuốc tiêm.

Loại thuốc

Dùng để điều trị tình trạng thiếu chất điện giải và trong các dung dịch thẩm tích.

MAGNESI HYDROXYD

Magnesii hydroxydum

$Mg(OH)_2$

P.t.l: 58,32

Magnesi hydroxyd phải chứa từ 95,0 % đến 100,5 % $Mg(OH)_2$.

Tính chất

Bột vô định hình, mịn và trắng.

Thực tế không tan trong nước, tan trong các acid loãng.

Định tính

A. Hòa tan khoảng 15 mg chế phẩm trong 2 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và trung hòa dung dịch bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Dung dịch này cho phản ứng của ion maggesi (Phụ lục 8.1).

B. Chế phẩm phải đạt yêu cầu của phép thử Mất khối lượng sau khi nung.

Màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 50 ml *acid acetic (TT)* và 50 ml *nước*, chỉ được sủi bọt nhẹ. Đun sôi 2 phút, để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*. Lọc (nếu cần) qua phễu lọc sứ hay silica có đường kính lỗ thích hợp đã được nung và xác định bì trước, để được dung dịch trong.

Dung dịch S không được có màu đậm hơn màu mẫu N_3 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chất tan trong nước

Không được quá 2,0 %.

Trộn 2,00 g chế phẩm với 100 ml *nước* và đun sôi 5 phút. Lọc nóng qua phễu thủy tinh xốp (số độ xốp là 40), để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*. Bốc hơi 50 ml dung dịch này đến khô và sấy ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cặn không được quá 20 mg.

Chất không tan trong acid acetic

Không được quá 0,1 %.

Cặn còn lại trong quá trình chuẩn bị dung dịch S được rửa, sấy khô và nung ở 600 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cặn không được quá 5 mg.

Clorid

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 1 ml dung dịch S pha loãng với *nước* thành 15 ml để thử.

Sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.4.14)

Lấy 0,6 ml dung dịch S pha loãng với *nước* thành 15 ml để thử.

Arsen

Không được quá 4 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 5 ml dung dịch S để thử theo phương pháp A.

Calci

Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.4.3).

Pha loãng 1,3 ml dung dịch S thành 150 ml bằng *nước*.

Lấy 15 ml dung dịch này để thử.

Kim loại nặng

Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và lắc với 25 ml *methyl isobutyl keton (TT)* 2 phút. Để tách lớp, lấy lớp nước và bốc hơi đến khô. Hòa tan cặn trong 30 ml *nước*. Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 1.

Dùng *dung dịch chỉ mẫu 2 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 0,07 % (Phụ lục 9.4.13).

Hòa tan 0,15 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng *nước*. Lấy 1 ml dung dịch này pha loãng với *nước* thành 10 ml để thử.

Mất khối lượng sau khi nung

Từ 29,0 % đến 32,5 %.

Nung 0,5 g chế phẩm bằng cách nâng nhiệt độ lên từ từ đến 900 °C và nung đến khối lượng không đổi.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml *nước* và 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CD)* theo Phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CD)* tương đương với 5,832 mg $Mg(OH)_2$.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín.

Loại thuốc

Kháng acid; nhuận tràng.

Chế phẩm

Viên nén, hỗn dịch.

MAGNESI OXYD NẶNG***Magnesii oxydum ponderosum***

MgO

P.t.l: 40,3

Magnesi oxyd phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % MgO, tính theo chế phẩm đã nung.

Tính chất

Bột trắng mịn.

Thực tế không tan trong nước, tan trong dung dịch acid loãng và sủi bọt nhẹ.

Định tính

A. 15 g chế phẩm chiếm thể tích khoảng 30 ml.

B. Hòa tan khoảng 15 mg chế phẩm trong 2 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Dung dịch phải có phản ứng của ion maggesi (Phụ lục 8.1).

C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Mất khối lượng do nung.

Màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 30 ml *nước* và 70 ml *acid acetic* (TT). Đun sôi 2 phút. Làm nguội và pha loãng với *dung dịch acid acetic* 2 M (TT) thành 100 ml. Lọc qua phễu sứ hoặc phễu silica có độ xốp thích hợp (đã nung và cân bi) để được dung dịch trong.

Dung dịch S không được có màu đậm hơn màu mẫu N_3 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chất tan trong nước

Không được quá 2,0 %.

Trộn 2,00 g chế phẩm với 100 ml *nước* và đun sôi trong 5 phút. Lọc nóng qua phễu thủy tinh xốp (số độ xốp 40), để nguội, thêm *nước* thành 100 ml. Lấy 50 ml dịch lọc bay hơi đến khô và sấy ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Cân thu được không được quá 20 mg.

Chất không tan trong acid acetic

Không được quá 0,1 %.

Cân thu được sau khi lọc ở phần chuẩn bị dung dịch S được rửa và nung ở 600 °C đến khối lượng không đổi, không được quá 5 mg.

Clorid

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 1,0 ml dung dịch S, pha loãng với *nước* thành 15 ml để tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 0,3 ml dung dịch S pha loãng với *nước* thành 15 ml để tiến hành thử.

Arsen

Không được quá 4 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 5 ml dung dịch S, tiến hành thử theo phương pháp A.

Calci

Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.4.3).

Pha loãng 1,3 ml dung dịch S với *nước* thành 150 ml. Lấy 15 ml dung dịch này để thử.

Sắt

Không được quá 0,07 % (Phụ lục 9.4.13).

Hòa tan 0,15 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT), pha loãng với *nước* thành 10 ml. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được pha loãng thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 20 ml dung dịch S cho vào bình gạn, thêm 15 ml *dung dịch acid hydrochloric* 25 % (TT) và lắc với 25 ml *methyl isobutyl keton* (TT) trong 2 phút. Để tách lớp. Lấy lớp nước bốc hơi đến khô, cân còn lại hòa tan

trong 1 ml *acid acetic* (TT) và pha loãng thành 30 ml với *nước*. Lấy chính xác 12 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp 1.

Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do nung

Không được quá 8,0 %.

Nung 1,00 g chế phẩm ở 900 °C đến khối lượng không đổi.

Định lượng

Hòa tan 0,320 g chế phẩm trong 20 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT) và pha loãng với *nước* thành 100,0 ml. Lấy 20,0 ml dung dịch này chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat* 0,1 M (CD) theo Phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

1 ml *dung dịch natri edetat* 0,1 M (CD) tương đương với 4,030 mg MgO.

Bảo quản

Đựng trong chai, lọ kín.

MAGNESI OXYD NHẸ***Magnesium oxydum leve***

MgO

P.t.l: 40,3

Magnesi oxyd phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % MgO, tính theo chế phẩm đã nung.

Tính chất

Bột trắng mịn, vô định hình.

Thực tế không tan trong nước, tan trong dung dịch acid loãng và sủi bọt nhẹ.

Định tính

A. 15 g chế phẩm chiếm thể tích khoảng 150 ml.

B. Hòa tan khoảng 15 mg chế phẩm trong 2 ml *dung dịch acid nitric* 2 M (TT) và trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd* 2 M (TT). Dung dịch phải có phản ứng của ion magnesi (Phụ lục 8.1).

C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Mất khối lượng do nung.

Chất tan trong nước, chất không tan trong acid acetic, sulfat, arsen, calci, mất khối lượng do nung và định lượng

Phải đáp ứng yêu cầu và tiến hành thử như đã mô tả ở chuyên luận "Magnesi oxyd nặng".

Màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Pha giống như chuyên luận "Magnesi oxyd nặng".

Dung dịch S không được có màu đậm hơn màu mẫu N_2 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Clorid

Không được quá 0,15 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 0,7 ml dung dịch S pha loãng với nước thành 15,0 ml và tiến hành thử.

Sắt

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.13).

Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)* và pha loãng với nước thành 10 ml. Lấy 2 ml pha loãng với nước thành 10 ml và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 20 ml dung dịch S cho vào bình gạn, thêm 15 ml *dung dịch acid hydrochloric 25 % (TT)* và lắc với 25 ml *methyl isobutyl keton (TT)* trong 2 phút. Để tách lớp. Lấy lớp nước bốc hơi đến khô, cân còn lại hòa tan trong 1,5 ml *acid acetic (TT)* và pha loãng thành 30 ml với nước. Lấy chính xác 12 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp 1.

Dùng *dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Bảo quản

Đựng trong chai, lọ kín.

MAGNESI STEARAT

Magnesium stearas

Magnesi stearat là hỗn hợp các muối magnesi và các acid béo và có thể chứa những tỷ lệ thay đổi của magnesi palmitat $[(C_{15}H_{31}COO)_2 Mg]$; P.t.l: 535,1] và magnesi stearat $[(C_{17}H_{35}COO)_2 Mg]$; P.t.l: 591,3], phải chứa từ 4,0 % đến 5,0 % magnesi (Mg), tính theo chế phẩm đã làm khô. Acid béo chứa không ít hơn 40,0 % acid stearic và tổng lượng acid stearic và acid palmitic không ít hơn 90,0 %.

Tính chất

Bột trắng mịn, nhẹ, sờ nhờn tay. Thực tế không tan trong nước và ethanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: C, D.

Nhóm II: A, B, D.

Dung dịch S: Cho 50 ml *ether không có peroxid (TT)* vào 5,0 g chế phẩm, sau đó thêm 20 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 20 ml nước. Đun nóng dưới ống sinh hàn hồi lưu đến khi hòa tan hoàn toàn. Để nguội, tách riêng lớp nước; Lắc lớp *ether* 2 lần, mỗi lần với 4 ml nước. Gộp tất cả các lớp nước và rửa với 15 ml *ether không có peroxid (TT)*. Pha loãng lớp nước thành 50 ml bằng nước.

A. Bốc hơi lớp *ether* của quá trình chuẩn bị dung dịch S đến khô và sấy cân ở 100 °C đến 105 °C. Điểm đông đặc của cân không được thấp hơn 53 °C (Phụ lục 6.6).

B. Lấy 0,200 g cân thu được từ mục A (phần Định tính), hòa tan trong 25 ml dung môi qui định. Chỉ số acid của các acid béo phải từ 195 đến 210 (Phụ lục 7.2).

C. Trên sắc ký đồ ở mục thành phần acid béo: thời gian lưu của các pic chính của dung dịch thử phải tương ứng với các pic của dung dịch phân giải.

D. 1 ml dung dịch S phải cho phản ứng định tính của ion magnesi (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa 1,0 g chế phẩm trong 20 ml *nước không có carbon dioxyl (TT)* và đun sôi trong 1 phút (vừa đun vừa lắc liên tục), để nguội, lọc. Thêm 0,05 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 10 ml dịch lọc. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyl 0,01 M (CĐ)*.

Clorid

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.5).

Pha loãng 0,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.4.14).

Pha loãng 0,3 ml dung dịch S thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Cadmi

Không được quá 3 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).

Dung dịch thử: Cân 50,0 mg chế phẩm và cho vào dụng cụ phá mẫu bằng polytetrafluoroethylen, thêm 0,5 ml hỗn hợp *acid hydrochloric - acid nitric không có chì và cadmi (1 : 5)*. Phá mẫu ở 170 °C trong 5 giờ. Để nguội, hòa tan cân bằng nước và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn bằng cách dùng *dung dịch cadmi chuẩn 10 phần triệu (TT)*, và pha loãng khi cần thiết bằng *dung dịch acid hydrochloric 1 % (TT)*.

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 228,8 nm, dùng đèn cathod rỗng cadmi làm nguồn bức xạ và lò graphit.

Chì

Không được quá 10 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).

Dung dịch thử: Chuẩn bị dung dịch thử như ở phần thử cadmi.

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn bằng cách dùng *dung dịch chì chuẩn 10 phần triệu (TT)* và pha loãng bằng nước khi cần thiết.

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 283,3 nm, dùng đèn cathod rỗng chì làm nguồn bức xạ và lò graphit. Tùy thuộc thiết bị có thể dùng vạch phát xạ ở 217,0 nm.

Nickel

Không được quá 5 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).

Dung dịch thử: Chuẩn bị dung dịch thử như ở phần thử cadmi.

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn bằng cách dùng *dung dịch nickel chuẩn 10 phần triệu (TT)* và pha loãng bằng nước khi cần thiết.

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 232,0 nm, dùng đèn cathod rỗng nickel làm nguồn bức xạ và lò graphit.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 6,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Độ nhiễm khuẩn

Tổng số vi khuẩn sống lại được không được quá 10^3 vi sinh vật trong 1 g chế phẩm. Xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6).

Chế phẩm không được có *E. coli* (Phụ lục 13.6).

Định lượng

Magnesi: Cân 0,500 g chế phẩm vào một bình nón dung tích 250 ml, thêm vào 50 ml hỗn hợp đồng thể tích *n-butanol (TT)* và *ethanol (TT)*, 5 ml *amoniac đậm đặc (TT)*, 3 ml *dung dịch đậm amoni clorid pH 10,0 (TT)*, 30,0 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* và 15 mg *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)*, đun nóng ở 45 °C đến 50 °C đến khi dung dịch trong và chuẩn độ bằng *dung dịch kẽm sulfat 0,1 M (CĐ)* đến khi màu chuyển từ xanh lam sang tím. Song song làm mẫu trắng.

1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 2,431 mg magnesi (Mg).

Thành phần acid béo

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Hòa 0,10 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch boron trifluorid trong methanol (TT)* vào bình nón có lắp ống sinh hàn hồi lưu. Đun sôi hồi lưu trong 10 phút. Thêm 4 ml *heptan (TT)* qua ống sinh hàn và đun sôi tiếp 10 phút. Để nguội, thêm 20 ml *dung dịch natri clorid bão hòa (TT)*. Lắc và để tách lớp. Lấy khoảng 2 ml lớp dung môi hữu cơ và làm khô qua 0,2 g *natri sulfat khan (TT)*. Lấy 1,0 ml pha loãng với *heptan (TT)* thành 10,0 ml.

Dung dịch phân giải: Chuẩn bị như dung dịch thử, dùng 50,0 mg acid palmitic chuẩn và 50,0 mg acid stearic chuẩn thay cho chế phẩm.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy (30 m × 0,32 mm) được tráng với macrogol 20000 (độ dày lớp phim 0,5 µm).

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký, lưu lượng 2,4 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ: Duy trì nhiệt độ buồng tiêm ở 220 °C, nhiệt độ của detector ở 260 °C và nhiệt độ của cột theo chương trình sau:

Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)	Tốc độ tăng nhiệt độ (°C/min)	Ghi chú
0 - 2	70	-	Đẳng nhiệt
2 - 36	70 → 240	5	Tăng tuyến tính
36 - 41	240	-	Đẳng nhiệt

Cách tiến hành:

Tiêm 1 µl dung dịch phân giải. Với điều kiện sắc ký trên, thời gian lưu tương đối của methyl palmitat so với methyl stearat là 0,88. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải của methyl palmitat và methyl stearat trong dung dịch phân giải ít nhất là 5,0.

Tiêm 1 µl dung dịch thử. Tính hàm lượng (%) của acid stearic và acid palmitic dựa trên diện tích pic của methyl palmitat và methyl stearat trong dung dịch thử theo phương pháp chuẩn hóa, bỏ qua các pic của dung môi.

Bảo quản

Đựng trong chai, lọ kín.

X

MAGNESI SULFAT

Magnesi sulfas

MgSO₄·7H₂O

P.t.l: 246,5

Magnesi sulfat phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % MgSO₄, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay tinh thể không màu, bóng.

Đễ tan trong nước, rất dễ tan trong nước sôi, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 10 ml nước. Dung dịch phải cho phản ứng định tính của ion magnesi và ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 50 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)*.

Clorid

Không được quá 300 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 1,7 ml dung dịch S pha loãng với nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Arsen ✕

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp A.

Sắt

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 5 ml dung dịch S pha loãng với nước thành 10 ml và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1.

Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 48,0 % đến 52,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 110 đến 120 °C; 1 h; sau đó 400 °C đến khối lượng không đổi).

✕ Định lượng

Hòa tan 0,450 g chế phẩm trong 100 ml nước và tiến hành chuẩn độ theo Phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

1 ml dung dịch natri edetat 0,1 M (CD) tương đương với 12,04 mg MgSO₄.

Bảo quản

Đựng trong chai, lọ kín; tránh ánh sáng.

MAGNESI TRISILICAT

Magnesii trisilicas

Magnesi trisilicat là magnesi silicat hydrat, có thành phần thay đổi gần đúng với công thức Mg₂Si₃O₈.xH₂O, phải chứa không dưới 29,0 % magnesi oxyd [MgO; P.t.l: 40,30] và không dưới 65,0 % silic dioxyd [SiO₂; P.t.l: 60,1], cả hai đều tính theo chế phẩm đã nung.

Tính chất

Bột trắng. Thực tế không tan trong nước và ethanol 96 %.

Định tính

Dung dịch S: Thêm vào 2,0 g chế phẩm một hỗn hợp gồm 4 ml acid nitric (TT) và 4 ml nước, rồi đun sôi, vừa đun vừa lắc liên tục. Thêm 12 ml nước, để nguội, lọc hoặc ly tâm để lấy dung dịch trong và pha loãng dịch lọc này thành 20 ml với nước.

A. 1 ml dung dịch S, sau khi trung hòa với dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), phải cho phản ứng định tính của ion magnesi (Phụ lục 8.1).

B. Cân 0,25 g chế phẩm vào một chén chì hoặc bạch kim. Thêm vào chén 10 mg natri fluorid (TT) và 0,2 ml

acid sulfuric (TT). Dùng dây đồng để trộn đều hỗn hợp trên và dàn thành lớp mỏng. Đặt chén bằng một đĩa plastic mỏng trong suốt đã được nhỏ một giọt nước ở mặt dưới và làm nóng nhẹ nhàng, cẩn thận. Một vòng tròn màu trắng sẽ nhanh chóng xuất hiện xung quanh giọt nước.

Giới hạn kiềm

Đun nóng trên cách thủy 10,0 g chế phẩm với 100,0 g nước trong bình nón dung tích 200 ml (đã cân bì trước) trong 30 phút, để nguội và thêm nước để hoàn lại khối lượng ban đầu. Để lắng, lọc hoặc ly tâm cho đến khi thu được một dịch lọc trong (Dung dịch A).

Thêm vào 10 ml dung dịch A 0,1 ml dung dịch phenolphthalein (TT), dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 1,0 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (CD).

Muối tan trong nước

Không được quá 1,5 %.

Lấy chính xác 20,0 ml dung dịch A cho vào chén bạch kim đã cân bì trước, bốc hơi trên cách thủy đến khô. Cẩn còn lại đem nung ở 900 °C đến khối lượng không đổi. Khối lượng của cặn không được quá 30 mg.

Arsen

Không được quá 4 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 2,5 ml dung dịch S, tiến hành thử theo phương pháp A.

Kim loại nặng

Không được quá 40 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Trung hòa 10 ml dung dịch S bằng dung dịch amoniac 6 M (TT), dùng dung dịch vàng metanil (TT) làm chỉ thị ngoại. Pha loãng với nước thành 20 ml và lọc nếu cần.

Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 1.

Dùng dung dịch chì mẫu 2 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Clorid

Không được quá 500 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 0,5 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Mẫu đối chiếu là hỗn hợp của 5 ml dung dịch clorid 5 phần triệu (TT) và 10 ml nước.

Sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 0,3 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Khả năng hấp thụ acid

1 g chế phẩm không được hấp thụ ít hơn 100,0 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M.

Phân tán 0,25 g chế phẩm trong dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (CD) và pha loãng thành 100,0 ml bằng dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (CD). Đặt trong cách thủy 2 giờ ở 37 ± 5 °C và lắc thường xuyên.

Sau đó để nguội. Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromophenol (TT)* vào 20,0 ml chất lỏng ở trên và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* đến khi xuất hiện màu xanh lam.

Mất khối lượng sau khi nung

Từ 17 % đến 34 %.

Nung 0,5 g chế phẩm ở 900 °C đến khối lượng không đổi trong chén bạch kim.

Định lượng

Magnesi oxyd: Cân chính xác khoảng 1,000 g chế phẩm vào một bình nón dung tích 200 ml, thêm 35 ml *acid hydrocloric (TT)* và 60 ml nước, đun nóng trong cách thủy 15 phút. Để nguội, lọc, rửa cặn và bình nón với nước, pha loãng dịch lọc và nước rửa thành 250,0 ml bằng nước. Lấy chính xác 50,0 ml dung dịch trên cho vào bình nón dung tích 500 ml, trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M* (khoảng 8 ml) và pha loãng với nước thành 300 ml, thêm 10 ml *đệm amoniac pH 10,0 (TT)* và 50 mg hỗn hợp đen *ericrochrom T (TT)*. Đun nóng đến 40 °C và chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tới khi màu chuyển từ tím sang xanh.

1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 4,030 mg MgO.

Silic dioxyd: Cân chính xác khoảng 0,700 g chế phẩm cho vào cốc cổ mở, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 10 ml nước, đun nóng trên cách thủy trong 90 phút, lắc thường xuyên và bổ sung lượng nước đã bốc hơi. Để nguội, gạn qua giấy lọc không tro, có đường kính 7 cm, rửa cặn bằng cách gạn 3 lần, mỗi lần với 5 ml nước nóng, chuyển toàn bộ cặn vào giấy lọc và rửa cặn với nước nóng đến khi 1 ml dung dịch lọc vẫn trong khi thêm 0,05 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 2 ml *dung dịch bari clorid 0,25 M (TT)*. Nung giấy lọc và cặn trong chén bạch kim đã cân bị trước ở 900 °C đến khối lượng không đổi.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín.

VIÊN NÉN MAGNESI - B6

Tabellae Magnesii - Pyridoxini hydrochlorid

Là viên nén bao chứa magnesi lactat dihydrat và pyridoxin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu thử nghiệm luận "Thuốc viên nén" mục "Viên bao" trong chuyên luận và các yêu cầu sau đây: (Phụ lục 1.20)

Hàm lượng magnesi lactat dihydrat

từ 90,0 % đến 105,0 % so với lượng $C_6H_{10}MgO_6 \cdot 2H_2O$, ghi trên nhãn.

Hàm lượng pyridoxin hydroclorid

từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$, ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao, màu đồng nhất.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương đương khoảng 40 mg magnesi, thêm 5 ml nước, đun nóng và khuấy để hòa tan. Để nguội, lọc. Dịch lọc phải cho phản ứng của ion magnesi (Phụ lục 8.1).

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Isopropanol - nước - amoniac đậm đặc (85 : 20 : 1).

Dung môi hòa tan: Dung dịch acid hydrocloric 0,01 M - methanol (70 : 30).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột viên tương đương khoảng 0,2 g magnesi lactat dihydrat trong dung môi hòa tan ở nhiệt độ 70 °C đến 80 °C, làm nguội và thêm dung môi hòa tan vừa đủ 10 ml. Lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,2 g magnesi lactat dihydrat chuẩn trong dung môi hòa tan ở nhiệt độ 70 °C đến 80 °C, làm nguội và thêm dung môi hòa tan vừa đủ 10 ml. Lọc.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch kali permanganat 1 %* và quan sát bằng mắt thường.

Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Trong phần định lượng pyridoxin hydroclorid, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic pyridoxin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Cân 20 viên đã loại bỏ vỏ bao, tính khối lượng trung bình viên nhân và nghiền thành bột mịn.

Định lượng magnesi lactat dihydrat

Cân chính xác một lượng bột viên tương đương khoảng 0,25 g magnesi lactat dihydrat vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 80 ml nước, lắc siêu âm 15 phút. Làm nguội và thêm nước tới định mức, lắc đều, lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 50,0 ml dịch lọc thêm 5 ml *đệm amoniac pH 10 (TT)* và 50 mg hỗn hợp đen *ericrochrom T (TT)*. Đun nóng khoảng 40 °C và chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ)* đến khi chuyển sang màu xanh. Tiến hành song song với một mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ)* tương đương với 11,92 mg $C_6H_{10}MgO_6 \cdot 2H_2O$.

Định lượng pyridoxin hydroclorid

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch A: Hỗn hợp gồm 75 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 1,36 %* và 25 thể tích *methanol (TT)*, điều chỉnh pH đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Pha động: Dung dịch natri heptansulfonat 0,22 % trong dung dịch A.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch pyridoxin hydroclorid chuẩn 0,005 %.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương đương khoảng 5 mg pyridoxin hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml nước, lắc kỹ và siêu âm 10 phút để hòa tan, thêm nước đến định mức, lắc đều, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (30 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tinh C (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 291 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký. Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic pyridoxin hydroclorid giữa các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Tính hàm lượng pyridoxin hydroclorid, $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$, dựa vào diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$ trong pyridoxin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Điều trị thiếu magesi, yếu cơ.

Hàm lượng thường dùng

470 mg magesi lactat dihydrat, 5 mg pyridoxin hydroclorid.

VIÊN NÉN MAGNESI - NHÔM HYDROXYD

Tabellae Aluminii hydroxydi - Magnesii hydroxydi
Viên nén Maloxal

Là viên nén chứa nhôm hydroxyd và magesi hydroxyd. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20). Là viên nhai hoặc ngậm nên không phải thử độ tan rã.

Hàm lượng của nhôm hydroxyd, $Al(OH)_3$, và magesi hydroxyd, $Mg(OH)_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Nếu dùng nhôm hydroxyd gel khô thì 1 mg gel khô tương ứng với 0,765 mg $Al(OH)_3$.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Cân 0,7 g bột viên đã nghiền mịn, thêm 10 ml dung dịch acid hydrocloric 3 M (TT) và 5 giọt dung dịch đỏ

methyl (TT), đun nóng đến sôi, thêm dung dịch amoniac 6 M (TT) đến khi có màu vàng đậm. Tiếp tục đun sôi trong 2 phút, lọc, dịch lọc phải có phản ứng của ion magesi (Phụ lục 8.1).

B. Rửa tủa thu được trong phần Định tính A với dung dịch amoni clorid 2 % nóng, hòa tan tủa trong acid hydrocloric (TT), dung dịch phải có phản ứng của ion nhôm (Phụ lục 8.1).

Khả năng trung hòa (Độ hấp thụ acid)

Chú ý: Đảm bảo nhiệt độ bình thử ở $37 \pm 3^\circ C$ trong suốt quá trình thử.

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng một viên và chuyển vào bình nón dung tích 250 ml. Nếu cần có thể làm ẩm toàn bộ lượng mẫu định lượng bằng 5 ml ethanol 96% (TT) (đã được chỉnh đến pH 3,5). Thêm 70 ml nước và khuấy bằng máy khuấy từ trong 1 phút. Hút chính xác 30,0 ml dung dịch acid hydrocloric 1 N (CD) vào bình nón [nếu khả năng trung hòa acid của mẫu vượt quá 25 mEq thì phải dùng 60,0 ml dung dịch acid hydrocloric 1 N (CD)]. Tiếp tục khuấy bằng máy khuấy từ thêm đúng 15 phút nữa. Ngay lập tức, chuẩn độ acid hydrocloric thừa bằng dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CD) đến pH 3,5 (bền vững trong 10 giây đến 15 giây), thời gian chuẩn độ không vượt quá 5 phút.

Song song tiến hành một mẫu trắng. Hiệu số thể tích dung dịch natri hydroxyd 0,5 N dùng trong mẫu trắng và dùng trong mẫu thử biểu thị lượng acid hydrocloric hấp thụ.

Lượng acid hydrocloric hấp thụ tính cho 1 viên theo khối lượng trung bình viên không được ít hơn số mEq tính bằng công thức:

$$0,55(0,0385 A) + 0,8(0,0343 M)$$

Trong đó:

0,0385 và 0,0343 theo thứ tự là khả năng trung hòa acid lý thuyết tính bằng mEq của $Al(OH)_3$ và $Mg(OH)_2$;

Mg và M lần lượt là số miligam $Al(OH)_3$ và $Mg(OH)_2$ A và m là lượng 1 viên, được tính dựa theo hàm lượng ghi có trên nhãn.

trên nhãn dung dịch acid hydrocloric 1 N (CD) tương đương 1 ml dung dịch hấp thụ.

1 mEq acid hydrocloric

Định lượng: Cân một lượng bột ở phần thử khả năng trung hòa acid tương ứng với 1200 mg nhôm trung hòa acid vào cốc có mỏ 150 ml, thêm 20 ml nước, thêm từ từ 30 ml acid hydrocloric 3 M (TT), khuấy đều nhẹ (nếu cần) cho dễ tan. Để nguội, lọc vào bình định mức 200 ml, rửa phễu lọc bằng nước, gộp dịch, được dung dịch A để tiến hành định mức. Trộn đều định lượng.

Nhôm hydroxyd: Lấy 10,0 ml dung dịch A, cho vào bình nón dung tích 250 ml rồi thêm theo thứ tự như sau: 20 ml nước, 25,0 ml dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ) (cho từng giọt, vừa cho vừa lắc kỹ), 20 ml dung dịch đệm acid acetic - amoni acetat (TT). Đun nóng đến nhiệt độ gần sôi trong 5 phút. Để nguội. Thêm 50 ml ethanol (TT), 2 ml dung dịch dithizon (TT). Trộn đều. Chuẩn độ lượng Trilon B thừa bằng dung dịch kẽm sulfat 0,05 M (CĐ) đến khi màu chuyển từ lục tím sang hồng. Song song tiến hành một mẫu trắng, thay 10 ml dung dịch A bằng 10 ml nước.

1 ml dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ) (dinatri edetat 0,05 M) tương đương với 3,9 mg $\text{Al}(\text{OH})_3$.

Magnesi hydroxyd: Lấy 5,0 ml dung dịch A, cho vào bình nón dung tích 300 ml. Thêm 100 ml nước cất (TT), 20 ml triethanolamin (TT). Lắc đều. Thêm 10 ml dung dịch đệm amoni ac - amoni clorid (TT) và 3 giọt dung dịch đen eriocrom T (TT) [hòa tan 200 mg đen eriocrom T (TT) trong hỗn hợp 15 ml triethanolamin (TT) và 5 ml ethanol (TT)]. Làm lạnh đến 3 °C đến 4 °C. Lấy ra và chuẩn độ bằng dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ) đến khi có màu xanh lam. Song song tiến hành một mẫu trắng, thay 5 ml dung dịch A bằng 5 ml nước.

1 ml dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ) tương đương với 2,916 mg $\text{Mg}(\text{OH})_2$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

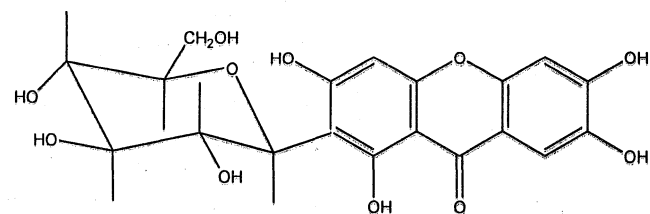
Phối hợp trong điều trị loét dạ dày - tá tràng.

Hàm lượng thường dùng

400 mg nhôm hydroxyd và 400 mg magnesi hydroxyd.

MANGIFERIN

Mangiferinum



$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$

P.t.l: 422,2

Mangiferin là 2-C- β -D-glucopyranozido-1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh mịn, màu vàng ánh lục, gần như không mùi.

Hòa tan trong hỗn hợp aceton - nước (1 : 1), thực tế không tan trong nước, ethanol 96 % và cloroform.

Định tính

A. Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm 0,001 % trong methanol (TT), trong khoảng 220 nm đến 400 nm, phải có hấp thụ cực đại ở các bước sóng 241 nm $\pm$ 2 nm, 258 nm $\pm$ 2 nm, 316 nm $\pm$ 2 nm và 366 nm $\pm$ 3 nm.

B. Hòa tan khoảng 0,01 g chế phẩm trong 10 ml hỗn hợp aceton - nước (1 : 1), thêm 0,01 g magnesi (TT) và 1 ml acid hydrocloric (TT), sau 10 phút sẽ xuất hiện màu vàng cam.

C. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Celulose dùng cho sắc ký.

Dung môi khai triển: Dung dịch acid acetic 15 % (tt/tt).

Dung môi pha mẫu: Aceton - nước (1 : 1).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 40 ml dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với dung môi pha mẫu.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 5,0 ml với dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg mangiferin chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10,0 ml với dung môi pha mẫu.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên, riêng dung dịch thử (1) chấm 50 μ l. Làm khô các vết chấm bằng luồng không khí mát. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và để khô ngoài không khí. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm.

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1): Không một vết phụ nào được đậm màu hơn vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (4 %), không quá 1 vết phụ đậm màu hơn vết trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (1 %) và không quá 2 vết phụ đậm màu hơn vết trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %). Bỏ qua vết (nếu có) tại điểm xuất phát.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 1,0 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 40 mg chế phẩm vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml hỗn hợp *aceton - dung dịch acid hydrochloric 1 %* (1 : 1), lắc siêu âm cho đến khi tan hoàn toàn, thêm hỗn hợp *aceton - dung dịch acid hydrochloric 1 %* (1 : 1) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, nếu cần. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được (hay dịch lọc) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp *aceton - dung dịch acid hydrochloric 1 %* (1 : 1). Tiến hành pha dung dịch chuẩn tương tự như dung dịch thử, dùng mangiferin chuẩn thay cho chế phẩm.

Đo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở bước sóng cực đại khoảng 368 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là hỗn hợp *aceton - dung dịch acid hydrochloric 1 %* (1 : 1).

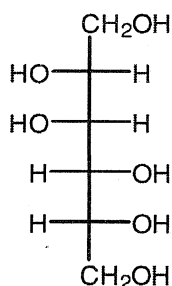
Dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{19}H_{18}O_{11}$ của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng mangiferin, $C_{19}H_{18}O_{11}$, trong chế phẩm.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng virus.

MANITOL**Mannitolum**

$C_6H_{14}O_6$

P.t.l: 182,2

Manitol là D-manitol, phải chứa từ 98,0 % đến 101,5 % $C_6H_{14}O_6$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh đa hình hoặc hạt nhỏ, màu trắng hay gần như trắng.

Đễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của manitol chuẩn. Chuẩn bị các mẫu đo dưới dạng đĩa nén. Nếu phổ không phù hợp, hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chất chuẩn trong nước, bốc hơi tới khô và dùng cân thu được ghi lại phổ hồng ngoại.

B. Điểm chảy: 165 °C đến 170 °C (Phụ lục 6.7).

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Propanol - ethyl acetat - nước (70 : 20 : 10).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg manitol chuẩn trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg manitol chuẩn và 25 mg sorbitol chuẩn trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai bản mỏng trong bình dung môi đến khi dung môi chạy được khoảng 17 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và phun *dung dịch acid 4-aminobenzoic (TT)*. Để khô bản mỏng trong luồng khí lạnh đến khi aceton bay hết. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 15 phút. Để nguội và phun *dung dịch natri periodat 0,2 % (TT)*. Để khô bản mỏng trong luồng khí lạnh. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 15 phút.

Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải có vị trí, màu sắc và kích thước tương ứng với vết chính của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách nhau rõ ràng.

D. Góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4) từ +23° đến +25°, tính theo chế phẩm khan.

Hòa tan 2,00 g chế phẩm và 2,6 g *natri tetraborat (TT)* trong khoảng 20 ml nước ở 30 °C; lắc liên tục trong 15 phút đến 30 phút để được dung dịch trong, thêm nước thành 25,0 ml để đo.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 5 ml dung dịch S, thêm 5 ml nước không có carbon dioxyd (TT) và 0,05 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CD)* dùng để chuyển màu của dung dịch trên sang màu hồng không được quá 0,2 ml.

Lấy 5 ml dung dịch S, thêm 5 ml nước không có carbon dioxyd (TT) và 0,05 ml dung dịch đỏ methyl (TT) làm chỉ thị. Lượng dung dịch hydrocloric 0,01 M (CĐ) dùng để chuyển màu của dung dịch trên sang màu đỏ không được quá 0,3 ml.

Độ dẫn điện

Không quá $20 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Hòa tan 20,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Xác định độ dẫn điện (Phụ lục 6.10) của dung dịch, khuấy nhẹ bằng que khuấy từ.

Đường khử

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 25 ml nước bằng cách đun nóng nhẹ. Để nguội và thêm 20 ml dung dịch đồng citrat (TT) và vài viên bi thủy tinh. Đun nóng sao cho sau 4 phút thì sôi và đun sôi tiếp 3 phút. Làm nguội nhanh, thêm 100 ml dung dịch acid acetic bằng 2,4 % (tt/tt) và 20,0 ml dung dịch iod 0,05 N (CĐ). Vừa lắc vừa thêm 25 ml hỗn hợp acid hydrocloric - nước (6 : 94). Khi tủa tan hết, chuẩn độ iod thừa bằng dung dịch natri thiosulfat 0,05 N (CĐ) với chỉ thị là dung dịch hồ tinh bột (TT) cho vào cuối phép chuẩn độ. Lượng dung dịch natri thiosulfat 0,05 N (CĐ) tiêu thụ không được ít hơn 12,8 ml.

Sorbitol

Không được quá 2,0 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Tráng bản mỏng dày 0,75 mm bằng hỗn hợp gồm 0,100 g carbomer (TT) trộn với 110 ml nước, để khoảng 1 giờ, thỉnh thoảng khuấy nhẹ, điều chỉnh đến pH 7,0 bằng dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), trộn với 30 g silica gel H (TT). Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 1 giờ, để nguội và dùng ngay.

Dung môi khai triển: 2-Propanol - dung dịch acid boric 0,2 % (85 : 15).

Dung dịch thử: Cân 0,5 g chế phẩm đã nghiền mịn, thêm 10 ml ethanol 96 % (TT), lắc 30 phút. Lọc lấy dịch lọc để thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg sorbitol chuẩn trong ethanol 96 % (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký 5 giờ, sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 15 phút, để nguội, phun dung dịch kali permanganat 0,5 % trong dung dịch natri hydroxyd 1 M và sấy ở 100 °C trong 2 phút.

Trên sắc ký đồ, vết tương ứng với sorbitol của dung dịch thử không được sẫm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu.

Clorid

Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 10 ml dung dịch S pha loãng với nước thành 15 ml để thử.

Sulfat

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.14).

Dùng dung dịch S.

Chì

Không được quá 0,5 phần triệu (Phụ lục 9.4.4).

Hòa tan 20,0 g chế phẩm trong 150,0 ml dung dịch acid acetic 1 M (TT) và tiến hành thử.

Nickel

Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.10).

Hòa tan 20,0 g chế phẩm trong 150,0 ml dung dịch acid acetic 1 M (TT) và tiến hành thử.

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,00 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Độ nhiễm khuẩn

Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm thì phải đáp ứng phép thử này. Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không được quá 100 vi khuẩn và không được quá 100 nấm trong 1 g chế phẩm, xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6).

Chế phẩm không được có *Escherichia coli* và *Salmonella* (Phụ lục 13.6).

Nội độc tố vi khuẩn

Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào khác để loại nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu này (Phụ lục 13.2).

Không quá 4 đơn vị trong 1 gam chế phẩm đối với thuốc tiêm có chứa 100 g manitol trong 1 lít hoặc ít hơn, và không quá 2,5 đơn vị nội độc tố trong 1 gam chế phẩm đối với thuốc tiêm có chứa nhiều hơn 100 g manitol trong 1 lít.

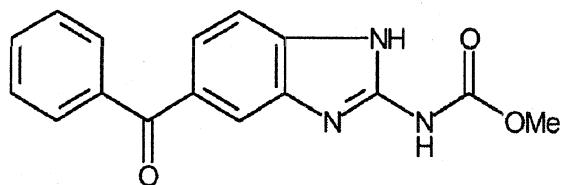
Định lượng

Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 10,0 ml dung dịch, thêm 20,0 ml dung dịch natri periodat 2,14 % (TT) và 2,0 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT), đun nóng trên cách thủy đúng 15 phút. Để nguội, thêm 3 g natri hydrocarbonat (TT) bằng cách thêm từng lượng nhỏ, 25,0 ml dung dịch natri arsenit 0,1 M (CĐ), lắc đều và thêm 5 ml dung dịch kali iodid 20 % (TT), để yên 15 phút. Chuẩn độ bằng dung dịch iod 0,1 N (CĐ) đến màu vàng. Song song làm mẫu trắng.

1 ml dung dịch iod 0,1 N (CĐ) tương đương với 1,822 mg $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

MEBENDAZOL**Mebendazolum** $C_{16}H_{13}N_3O_3$

P.t.l: 295,3

Mebendazol là methyl N-(5-benzoyl-1H-benzimidazol-2-yl) carbamat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{13}N_3O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột đa hình màu trắng hay vàng nhạt.

Thực tế không tan trong nước, dicloromethan và ethanol 96 %.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của mebendazol chuẩn.

B. Hòa tan 30 mg chế phẩm trong 2 ml *acid formic khan* (TT) và pha loãng với *propan-2-ol* (TT) để được 100 ml. Lấy 2,5 ml và thêm *propan-2-ol* (TT) để được 100 ml. Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch này trong khoảng bước sóng 230 nm đến 320 nm có 2 cực đại hấp thụ ở 247 nm và 312 nm. A (1 %, 1 cm) ở 247 nm từ 940 đến 1040 và A (1 %, 1 cm) ở 312 nm từ 485 đến 535. Dùng dung dịch 0,05 % *acid formic khan* trong *propan-2-ol* (TT) làm mẫu trắng.

C. Lấy 10 mg chế phẩm, thêm 5 ml *ethanol* 96 % (TT), 1 ml *dung dịch dinitrobenzen* 1 % trong *ethanol* 96 % (TT) và 1 ml *dung dịch natri hydroxyd* 2 M (TT), xuất hiện màu vàng đậm.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml hỗn hợp *acid formic khan - dicloromethan* (1 : 9). Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu mẫu VN₄ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel HF₂₅₄.

Dung môi khai triển: *Methanol - acid formic khan - dicloromethan* (5 : 5 : 90).

Dung môi hòa tan: *Acid formic khan - dicloromethan* (1 : 9).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hút 1 ml dung dịch thử, thêm dung môi hòa tan vừa đủ 200 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Hút 10 ml dung dịch đối chiếu (1), thêm dung môi hòa tan vừa đủ 20 ml.

Cách tiến hành:

Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng trong luồng khí nóng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ, bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử không được có màu đậm hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (1) và chỉ được phép 1 vết có màu đậm hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 3 ml *acid formic khan* (TT) và thêm 40 ml *acid acetic khan* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CĐ) tương đương với 29,53 mg $C_{16}H_{13}N_3O_3$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống giun sán có phổ rộng.

Chế phẩm

Viên nén, dung dịch uống, hỗn dịch uống.

VIÊN NÉN MEBENDAZOL**Tabellae Mebendazoli**

Là viên nén chứa mebendazol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng mebendazol, $C_{16}H_{13}N_3O_3$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng ngà hoặc vàng nhạt.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - acid formic* 96 % (90 : 5 : 5).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với 200 mg mebendazol, lắc kỹ với 20 ml hỗn hợp *cloroform - acid formic* 96 % (19 : 1). Làm ẩm hỗn dịch này trong nồi cách thủy vài phút, để nguội, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg mebendazol đối chiếu trong 5 ml hỗn hợp *cloroform - acid formic* 96 % (19 : 1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch, làm khô vết chấm. Triển khai sắc ký đến khi dung môi di chuyển được 3/4 bản mỏng, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho giá trị R_f tương ứng với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch *acid hydrochloric* 0,1 M (TT) chứa *natri laurylsulfat* 1% (TT).

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 120 min.

Cách tiến hành:

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Hòa tan 8 g *natri hydroxyd* (TT) trong 2 l nước, thêm 3 g *natri laurylsulfat* (TT), trộn, sau đó thêm 20 ml *acid phosphoric* (TT) và chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric* (TT).

Pha động: *Acetonitril* (TT) - dung dịch đệm (3 : 7). Lọc và đuổi khí pha động, điều chỉnh tỉ lệ pha động nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 25 mg mebendazol chuẩn cho vào bình định mức 50 ml, thêm 10 ml *acid formic* (TT), lắc để hòa tan và thêm đến định mức bằng *methanol* (TT). Pha loãng dung dịch thu được bằng môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ tương tự như nồng độ của dung dịch thử.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan chế phẩm, lọc, bỏ dịch lọc đầu.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic mebendazol trong 6 lần tiêm nhắc lại phải không lớn hơn 2 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính lượng mebendazol, $C_{16}H_{13}N_3O_3$, hòa tan trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{13}N_3O_3$ trong mebendazol chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng mebendazol so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 120 phút.

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol* - dung dịch *kali dihydrophosphat* 0,05M (60 : 40). Điều chỉnh pH của hỗn hợp đến 5,5 bằng *acid phosphoric* 0,1 M (TT) hoặc dung dịch *natri hydroxyd* 1 M (TT), lọc. Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 25 mg mebendazol chuẩn cho vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *acid formic* (TT), đun trong cách thủy ở 50 °C trong 15 phút, lắc bằng máy lắc trong 5 phút, thêm 90 ml *methanol* (TT), để nguội và thêm *methanol* (TT) tới định mức, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 25,0 ml với pha động.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 500 mg mebendazol cho vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *acid formic* (TT), đun trong cách thủy ở 50 °C trong 15 phút. Lắc bằng máy lắc trong 1 giờ, pha loãng với nước đến định mức, lắc, lọc. Loại bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 5 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml, pha loãng với hỗn hợp dung dịch *acid formic - methanol* (1 : 9) đến định mức, trộn đều. Hút chính xác 5,0 ml dung dịch này cho vào bình định mức 25 ml, pha loãng với pha động đến định mức.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Thử khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng phải không quá 2, hiệu lực cột được xác định từ pic chính có số đĩa lý thuyết không dưới 2500, và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic chính trong 6 lần tiêm nhắc lại không lớn hơn 1 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính lượng mebendazol, $C_{16}H_{13}N_3O_3$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{13}N_3O_3$ trong mebendazol chuẩn.

Bảo quản

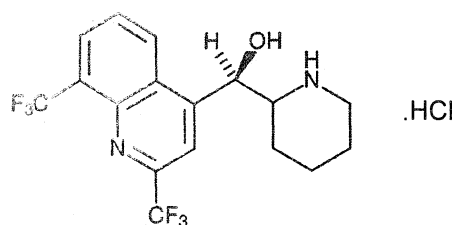
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc trị giun sán.

Hàm lượng thường dùng

500 mg.

MEFLOQUIN HYDROCLORID*Mefloquini hydrochloridum*

và đồng phân đối quang

 $C_{17}H_{15}F_6N_2O \cdot HCl$

P.t.l: 414,8

Mefloquin hydroclorid là (RS)-[2,8-bis(trifluoromethyl)-quinolin-4-yl][(2SR)-piperidin-2-yl]methanol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{17}H_{15}F_6N_2O \cdot HCl$ tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc vàng nhạt, đa hình. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong methanol, tan trong ethanol 96 %.

Chảy ở khoảng 260 °C kèm theo phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của mefloquin hydroclorid chuẩn. Nếu có điểm khác giữa hai phổ hồng ngoại, hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong *methanol* (TT), bay hơi đến khô và đo phổ hồng ngoại của các cặn thu được.

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄* đã được triển khai bằng hỗn hợp *methanol* - *methylen clorid* (20 : 80), sấy khô ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 15 phút trước khi sử dụng.

Dung môi khai triển: *Acid acetic khan* - *methanol* - *methylen clorid* (10 : 10 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 8 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 8 mg mefloquin hydroclorid chuẩn trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,5 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Thêm 1 ml dung dịch quinidin sulfat chuẩn 0,0016 % vào 1 ml dung dịch đối chiếu (2).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung

dịch đối chiếu (3). Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được ít nhất 10 cm. Làm khô bản mỏng bằng một luồng không khí ẩm trong 15 phút, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Phun nhẹ bằng hỗn hợp *acid sulfuric* - *thuốc thử iodoplatinat* (1 : 40) được pha ngay trước khi sử dụng. Sau đó phun bản mỏng với *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc* (TT). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho hai vết tách ra rõ ràng.

C. Trộn khoảng 10 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng* (TT) trong chén nung, nung cho đến khi thu được cặn màu trắng. Để nguội, thêm 2 ml *nước* và 0,05 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT), thêm khoảng 1 ml *acid hydrocloric loãng* (TT) để tạo dung dịch không màu. Lọc, thêm vào dịch lọc 0,1 ml *dung dịch alizarin S* (TT) mới pha và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat* (TT). Trộn đều, để yên 5 phút và so sánh màu của dung dịch thử với màu của mẫu trắng được chuẩn bị tương tự nhưng không có chế phẩm. Dung dịch thử có màu vàng, mẫu trắng có màu đỏ.

D. Thêm vào khoảng 20 mg chế phẩm 0,2 ml *acid sulfuric* (TT), xuất hiện huỳnh quang màu xanh khi nhìn dưới đèn tử ngoại 365 nm.

E. Chế phẩm phải cho phản ứng B của phép thử định tính của ion clorid (Phụ lục 8.1)

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VN₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Góc quay cực

Từ -0,2° đến +0,2°, xác định trên dung dịch S (Phụ lục 6.4).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 1 g *tetraheptylamoni bromid* (TT) trong hỗn hợp gồm 200 ml *methanol* (TT), 400 ml *dung dịch natri hydrosulfat* 0,15 % và 400 ml *acetonitril* (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 8 mg mefloquin hydroclorid chuẩn và 8 mg quinidin sulfat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) và tiền cột (2,5 cm × 4 mm) đều được nhồi pha tĩnh là *end-capped octadecylsilyl silica gel* (5 μm).

Detector tử ngoại đặt tại bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành: Ổn định cột bằng cách cho pha động chạy qua cột với tốc độ 2 ml/min, trong khoảng 30 phút.

Tiêm dung dịch đối chiếu (1), điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ không được dưới 50 % của thang đo.

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Với điều kiện sắc ký trên, thời gian lưu của quinidin khoảng 2 phút, mefloquin khoảng 4 phút, tạp chất B khoảng 15 phút và tạp chất A khoảng 36 phút.

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa quinidin và mefloquin ít nhất phải bằng 8,5.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1), để thời gian rửa giải gấp 10 lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic có thời gian lưu tương đối bằng khoảng 0,7 so với mefloquin không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %). Diện tích của bất kỳ pic phụ khác không được lớn hơn diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %), tổng diện tích của các pic phụ này không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Loại bỏ những pic có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1).

Ghi chú:

Tạp chất A: [2,8-bis(trifluoromethyl)quinolin-4-yl]-(pyridin-2-yl)methanon.

Tạp chất B: (RS)-[2,8-bis(trifluoromethyl)quinolin-4-yl](pyridin-2-yl)methanol.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6).

Cân chính xác khoảng 0,350 g chế phẩm, hòa tan trong 15 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 40 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)* tương đương với 41,48 mg $C_{17}H_{17}ClF_6N_2O$.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Nhãn

Phải quy định rõ thời hạn sử dụng và điều kiện bảo quản.

Loại thuốc

Kháng ký sinh trùng sốt rét.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN MEFLOQUIN***Tabellae Mefloquini hydrochloridi***

Là viên nén chứa mefloquin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng mefloquin, $C_{17}H_{16}F_6N_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄* đã được triển khai bằng hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (20 : 80), sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 15 phút trước khi sử dụng.

Dung môi khai triển: *Acid acetic khan - methanol - methylen clorid* (10 : 10 : 80).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 16 mg mefloquin, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ và lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch mefloquin hydroclorid chuẩn có nồng độ 1,6 mg/ml trong *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,5 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (3): Thêm 1 ml dung dịch quinidin sulfat chuẩn 0,016 mg/ml vào 1 ml dung dịch đối chiếu (2).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung

môi đi được khoảng 10 cm. Lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí khoảng 15 phút. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Phun nhẹ bằng hỗn hợp được pha ngay trước khi sử dụng gồm 1 thể tích *acid sulfuric* (TT) và 40 thể tích *thuốc thử iodoplatinat* (TT). Sau đó phun lên bản mỏng *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc* (TT).

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về giá trị R_f , màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho hai vết tách ra rõ ràng.

B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic mefloquin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

C. Lắc một lượng bột viên tương đương 0,2 g mefloquin với 20 ml nước, lọc, dịch lọc cho phản ứng A đặc trưng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 1 g *tetraheptylamoni bromid* (TT) trong hỗn hợp gồm 200 ml *methanol* (TT), 400 ml dung dịch có chứa 1,5 g/l *natri hydrosulfat* (TT) và 400 ml *acetonitril* (TT).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng mefloquin hydroclorid chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,1 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg mefloquin vào bình định mức 200 ml, thêm 100 ml pha động và lắc siêu âm 15 phút. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến định mức, lắc đều. Lọc.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 8 mg mefloquin hydroclorid chuẩn và 8 mg quinidin sulfat chuẩn trong vừa đủ 50,0 ml pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu thành 100,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) và tiền cột (2,5 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, độ phân giải giữa hai pic mefloquin và quinidin không nhỏ hơn

8,5. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic mefloquin trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng mefloquin, $C_{17}H_{16}F_6N_2O$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{17}H_{16}F_6N_2O$ của mefloquin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

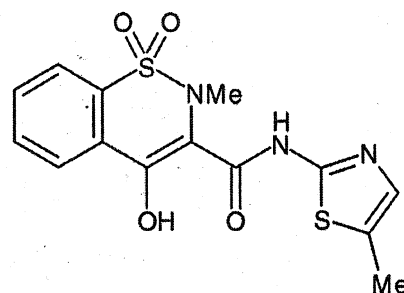
Kháng ký sinh trùng sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

250 mg.

MELOXICAM

Meloxicamum



$C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$

P.t.l: 351,4

Meloxicam là 4-hydroxy-2-methyl-N-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2H-1,2,4-benzothiazin-3-carboxamid 1,1-dioxyd, phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu vàng nhạt, thực tế không tan trong nước, khó tan trong aceton, tan trong dimethylformamid, rất khó tan trong ethanol 96 % và methanol.

Định tính

A. Phô hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phô hồng ngoại của meloxicam chuẩn.

B. Phô hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm 0,0015 % trong *methanol* (TT) ở dải sóng từ 240 nm đến 450 nm cho một cực đại hấp thụ tại bước sóng 354 nm. Độ hấp thụ ở bước sóng 354 nm khoảng 0,8.

Độ trong của dung dịch

Dung dịch chế phẩm 5,0 % trong *dimethylformamid* (TT) phải trong (Phụ lục 9.2).

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động A: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,1 %, đã được điều chỉnh đến pH 6,0 bằng dung dịch natri hydroxyd 8,5 %.

Pha động B: Methanol (TT).

Dung dịch thử: Pha dung dịch chế phẩm có nồng độ 0,4 % trong một hỗn hợp methanol 40 % - dung dịch natri hydroxyd 0,4 M (50 : 3). Pha loãng gấp đôi dung dịch này bằng methanol 40 %.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 100 thể tích bằng methanol 40 %. Pha loãng 1 thể tích dung dịch này thành 10 thể tích bằng methanol 40 %.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha dung dịch tạp chất chuẩn của meloxicam có nồng độ 0,4 % trong một hỗn hợp methanol 40 % - dung dịch natri hydroxyd 0,4 M (50 : 3). Pha loãng gấp đôi dung dịch này bằng methanol 40 %.

Điều kiện sắc ký: Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm), cột Inertsil ODS-2 là phù hợp.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 260 nm và 350 nm.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành chạy sắc ký theo chương trình ở bảng sau:

Thời gian (min)	Pha động A % (tt/tt)	Pha động B % (tt/tt)
0	60	40
2,5	60	40
12	30	70

Tiêm lần lượt các dung dịch đối chiếu (2), (1) và dung dịch thử. Tiến hành chạy sắc ký với khoảng thời gian 15 phút, đối với dung dịch thử khoảng 20 phút hoặc đến khi tạp C được rửa giải. Phép thử chỉ có hiệu lực khi dung dịch đối chiếu (2) cho sắc ký đồ giống với sắc ký đồ đối chiếu được cung cấp cùng với tạp meloxicam chuẩn.

Giới hạn:

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử ở bước sóng 350 nm, diện tích pic của pic tương ứng với pic tạp chất A và pic tạp chất C không được lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic thu được trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1) ở bước sóng 350 nm (0,1 % tạp chất A với hệ số đáp ứng tương đối là 0,5 và 0,05 % đối với tạp chất C).

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử ở bước sóng 260 nm, diện tích pic của pic tương ứng với pic của tạp chất B không được lớn hơn diện tích của pic thu được trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1) ở bước sóng 350 nm (0,1 %).

Trên cả hai sắc ký đồ của dung dịch thử ở cả hai bước sóng 260 nm và 350 nm, diện tích pic của bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn diện tích của pic

thu được trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1) ở bước sóng 350 nm (0,1 %). Tính hàm lượng phần trăm của tạp chất A và tạp chất C ở bước sóng 350 nm, hàm lượng phần trăm của tạp chất B ở bước sóng 260 nm và hàm lượng phần trăm của các pic phụ khác ở bước sóng đáp ứng cao hơn. Tổng phần trăm của tất cả các tạp không được quá 0,3 %.

Ghi chú:

Tạp chất A: Ethyl 4-hydroxy-2-methyl-2H-1,2-benzothiazin-3-carboxylat 1,1-dioxid.

Tạp chất B: 5-Methylthiazol-2-ylamin.

Tạp chất C: 4-Hydroxy-2-methyl-N-ethyl-N'-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2H-1,2-benzothiazin-3-carboxamid 1,1-dioxid.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 2,0 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(3,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 50 ml acid acetic khan (TT) và 5 ml acid formic khan (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD), xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD) tương đương với 35,14 mg C₁₄H₁₃N₃O₄S₂.

Bảo quản

Đựng trong chai lọ nút kín.

Loại thuốc

Giảm đau và chống viêm không steroid.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN MELOXICAM**Tabellae Meloxicami**

Là viên nén chứa meloxicam.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng meloxicam, C₁₄H₁₃N₃O₄S₂, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu vàng nhạt, thành và cạnh viên lảnh lảnh.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel F_{254} .

Dung môi khai triển: Amoniac 13,5 M - methanol - dicloromethan (1 : 20 : 80)

Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 50 mg meloxicam, thêm 5 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M trong methanol và 20 ml methanol (TT), lắc trong 15 phút và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg meloxicam trong 5 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M trong methanol, pha loãng dung dịch thu được thành 25 ml bằng methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về hình dạng, màu sắc và R_f với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Trong mục Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic meloxicam trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm.

Chuẩn bị dung dịch đệm: Hòa tan 13,61 g kali dihydrophosphat (TT) trong 800 ml nước, điều chỉnh đến pH 7,5 với dung dịch natri hydroxyd 0,5 M và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 30 mg meloxicam chuẩn trong 5 ml methanol (TT), thêm 1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M và thêm môi trường hòa tan tới vừa đủ 200,0 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với môi trường hòa tan (dung dịch thu được có hàm lượng meloxicam khoảng 0,00075 %).

Dung dịch thử: Lọc dung dịch môi trường sau khi hòa tan chế phẩm, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng với môi trường hòa tan để có nồng độ tương đương với dung dịch chuẩn (nếu cần).

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở bước sóng 362 nm, mẫu trắng là môi trường hòa tan.

Tính hàm lượng meloxicam đã hòa tan trong một viên từ độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng của $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$ trong meloxicam chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % lượng meloxicam, $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn đều 630 ml dung môi A và 370 ml dung môi B.

Dung môi A: Dung dịch diamoni hydrophosphat 0,20 %, điều chỉnh tới pH 7 bằng dung dịch acid phosphoric 2 M.

Dung môi B: Trộn 650 ml methanol (TT) với 100 ml 2-propanol (TT), trộn đều.

Dung dịch (1): Cân một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 30 mg meloxicam, thêm 10 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), khuấy đều để làm ẩm, thêm 40 ml methanol (TT), lắc siêu âm trong 5 phút. Thêm tiếp 40 ml methanol (TT), lắc bằng khuấy từ trong 3 giờ và sau đó lắc siêu âm trong 5 phút. Để nguội, thêm methanol (TT) vừa đủ 100,0 ml và lọc.

Dung dịch (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch (1) thành 100,0 ml với methanol (TT); pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với methanol (TT).

Dung dịch (3): Hòa tan 4,5 mg 5-methylthiazol-2-ylamin trong 20 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT) và 20 ml methanol (TT), để nguội và thêm methanol (TT) vừa đủ 200,0 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml với methanol (TT).

Dung dịch (4): Hỗn hợp đồng thể tích dung dịch (1) và dung dịch (3).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm $\times$ 4,0 mm) nhồi pha tĩnh C (10 μ m).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Phép thử chỉ có giá trị nếu trên sắc ký đồ của dung dịch (4), hệ số phân giải giữa hai pic chính ít nhất bằng 4.

Trên sắc ký đồ của dung dịch (1), diện tích của pic tương ứng với 5-methylthiazol-2-ylamin không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (3) (0,15 %); diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (2) (0,2 %) và tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (2) (0,5 %).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký thực hiện như mục Tạp chất liên quan.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg meloxicam, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, thêm 40 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 5 phút. Thêm tiếp 40 ml *methanol (TT)*, lắc bằng khuấy từ trong 3 giờ và sau đó lắc siêu âm trong 5 phút. Để nguội, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 100,0 ml và lọc.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 30 mg meloxicam chuẩn trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, thêm 40 ml *methanol (TT)*, để nguội và thêm *methanol (TT)* vừa đủ 100,0 ml.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng meloxicam, $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$, trong viên dựa vào diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$ trong meloxicam chuẩn.

Bảo quản

Bảo quản ở nơi khô, nhiệt độ từ 15 °C đến 30 °C (tốt nhất là 25 °C).

Loại thuốc

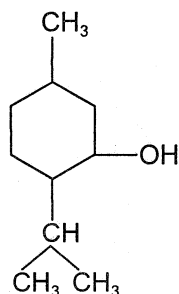
Thuốc chống viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng

7,5 mg, 15 mg.

MENTHOL

Mentholum



$C_{10}H_{20}O$

P.t.l: 156,3

Menthol tự nhiên thường ở dạng tả tuyến. Menthol tổng hợp ở dạng tả tuyến hoặc racemic. Menthol racemic là hỗn hợp đồng lượng của (1*R*,2*S*,5*R*)-2-isopropyl-5-methylcyclohexanol và của (1*R*,2*S*,5*S*)-2-isopropyl-5-methylcyclohexanol.

Tính chất

Bột tinh thể hoặc tinh thể hình lăng trụ hay hình kim, không màu, sáng, có mùi mạnh của bạc hà, bay hơi ở nhiệt độ bình thường. Thực tế không tan trong nước, rất dễ tan trong ethanol 96 %, ether và ether dầu hỏa,

dễ tan trong dầu béo và parafin lỏng, rất khó tan trong glycerin.

Dạng racemic chảy ở khoảng 34 °C. Dạng tả tuyến chảy ở khoảng 43 °C.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, D.

A. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử góc quay cực riêng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - toluen (5: 95).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg menthol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên và triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng ngoài không khí đến khi dung môi bay hết và phun *dung dịch anisaldehyd (TT)*. Sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 5 phút đến 10 phút. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Trong mục thử Tạp chất liên quan: pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải có cùng thời gian lưu với thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

D. Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong 0,5 ml *pyridin khan (TT)*, thêm 3 ml *dung dịch dinitrobenzoyl clorid 15 % trong pyridin khan*. Đun nóng trên cách thủy 10 phút. Vừa khuấy vừa thêm từng lượng nhỏ 7,0 ml *nước* và để trong nước đá 30 phút. Tủa được tạo thành. Để lắng và gạn lấy tủa. Rửa tủa hai lần, mỗi lần 5 ml *nước* đã được làm lạnh trước trong nước đá. Kết tinh lại trong 10 ml *aceton (TT)* và rửa với *aceton* đã được làm lạnh trong nước đá, sấy khô ở 75 °C và ở áp suất không được quá 2,7 kPa trong 30 phút. Tinh thể có điểm chảy ở 130 °C đến 131 °C với dạng racemic và ở 154 °C đến 157 °C với dạng tả tuyến (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong 10 ml *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi. Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị. Dung dịch

phải không màu và phải chuyển sang màu đỏ khi thêm không quá 0,5 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ).

Góc quay cực riêng

Từ -45° đến -51° (menthol tả tuyền) và từ $-2,0^{\circ}$ đến $+2,0^{\circ}$ (menthol racemic) (Phụ lục 6.4).

Xác định trên dung dịch S.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong methylen clorid (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10,0 ml bằng methylen clorid (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40,0 mg chế phẩm và 40,0 mg isomenthol (TT) trong methylen clorid (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 0,10 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng methylen clorid (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 40,0 mg menthol chuẩn trong methylen clorid (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (2,0 m $\times$ 2 mm) được nhồi diatomit dùng cho sắc ký khí và được tẩm 15 % (kl/kl) *macrogol 1500* (TT).

Khí mang là nitrogen dùng cho sắc ký khí, lưu lượng 30 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ cột ở 120°C , buồng tiêm ở 150°C và detector ở 200°C .

Thể tích tiêm: 1 μl

Cách tiến hành:

Tiêm riêng biệt mỗi dung dịch trên, ghi sắc ký đồ với thời gian gấp đôi thời gian lưu của pic menthol. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), tổng diện tích các pic phụ trừ pic chính không được lớn hơn 1,0 % diện tích pic chính. Bỏ qua bất kỳ các pic của dung môi và các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,05 % diện tích pic chính. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), hệ số phân giải giữa các pic tương ứng với menthol và isomenthol không được nhỏ hơn 1,4 và tỷ số giữa tín hiệu trên nhiễu trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) không được nhỏ hơn 5.

Cẩn sau khi bay hơi

Không được quá 0,05 %.

Bốc hơi 2,00 g chế phẩm trên cách thủy cho đến khi bay hơi hết và sấy cẩn ở 100°C đến 105°C trong 1 giờ. Cẩn còn lại không được quá 1,0 mg.

Bảo quản

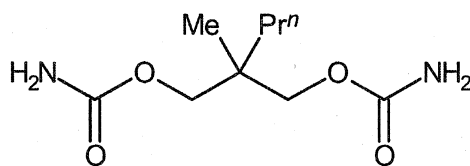
Trong lọ kín, ở chỗ mát.

Tương kỵ

Cloral hydrat, phenol, long não, resorcin, thymol.

MEPROBAMAT

Meprobamatum



$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$

P.t.l: 218,3

Meprobamat là 2-methyl-2-propylpropan-1,3-diyl dicarbamat, phải chứa từ 97,0 % đến 101,0 % $\text{C}_9\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hay vô định hình, màu trắng hay gần như trắng.

Khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: A, C, D.

A. Điểm chảy của chế phẩm phải từ 104°C đến 108°C (Phụ lục 6.7).

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của meprobamat chuẩn.

C. Thêm 1 ml *anhydrid acetic* (TT) và 0,05 ml *acid sulfuric* (TT) vào 0,5 g chế phẩm, trộn đều và để 30 phút, lắc liên tục. Đổ từng giọt dung dịch này vào 50 ml nước, trộn đều. Cọ thành ống nghiệm bằng đũa thủy tinh để tạo tủa kết tinh. Lọc, rửa và sấy tủa ở 60°C . Điểm chảy của tủa phải từ 124°C đến 128°C (Phụ lục 6.7).

D. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 15 ml dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol (TT) và đun sôi dưới sinh hàn ngược 15 phút. Thêm 0,5 ml *acid acetic* băng (TT) và 1 ml dung dịch cobalt nitrat 5 % trong ethanol, màu xanh lam đậm xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 20 ml ethanol (TT). Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Không được quá 1,0 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Pyridin - aceton - hexan (10 : 30 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong ethanol 96 % (TT) và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,1 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng *ethanol* 96 % (TT).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 30 phút, để nguội và phun dung dịch gồm 0,25 g *vanilin* (TT) trong hỗn hợp của 10 ml *ethanol* 96 % (TT) và 40 ml *acid sulfuric* (TT) đã làm nguội. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 30 phút.

Trên sắc ký đồ, bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *nước - acetone* (15 : 85) và pha loãng thành 20 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi. Lấy 12 ml dung dịch này và tiến hành theo phương pháp 2.

Dùng dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu được pha bằng cách pha loãng *dung dịch chỉ mẫu 100 phần triệu* (TT) bằng hỗn hợp *nước - acetone* (15 : 85) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; áp suất giảm; 60 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

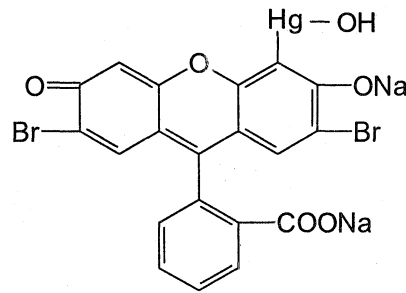
Hòa tan 0,1000 g chế phẩm trong 15 ml *dung dịch acid sulfuric* 25 % (tt/tt) và đun sôi dưới sinh hàn ngược trong 3 giờ. Làm nguội, hòa tan bằng cách thêm cẩn thận 30 ml *nước*, làm nguội tiếp và chuyển vào bộ cất kéo hơi nước. Thêm 40 ml *dung dịch natri hydroxyd* 10 M (TT) và cất. Hứng dịch cất vào bình có chứa sẵn 40 ml *dung dịch acid boric* 4 %. Cất đến khi thu được khoảng 200 ml. Thêm 0,25 ml *dung dịch hỗn hợp đỏ methyl* (TT) làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrochloric* 0,1 M (CĐ) đến khi màu chuyển từ xanh lục sang tím. Song song làm mẫu trắng.

1 ml *dung dịch acid hydrochloric* 0,1 M (CĐ) tương đương với 10,91 mg $C_9H_8Br_2HgNa_2O_6$.

MERCUROCROM

Mercuresceinum natricum

Thuốc đỏ



$C_{20}H_8Br_2HgNa_2O_6$

P.t.l: 750,7

Mercurocrom là muối dinatri của acid [2,7dibromo-9-(2-carboxyphenyl)-6-hydroxy-3-oxo-3H-xanthene-5-yl]-hydroxymercury, phải chứa từ 22,4 % đến 26,7 % Hg và 18,0 % đến 22,4 % Br, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Vảy hay hạt màu nâu đỏ ánh xanh, không mùi.

Đễ tan trong nước nhưng đôi khi để lại một lượng nhỏ các tiểu phân không tan được, thực tế không tan trong ether và ethanol.

Định tính

A. Dung dịch chế phẩm 0,05 % có màu đỏ và cho huỳnh quang xanh vàng.

B. Thêm 3 giọt *dung dịch acid sulfuric* 10 % (TT) vào 5 ml dung dịch chế phẩm 0,4 %, có tủa da cam ánh đỏ xuất hiện.

C. Đun nóng 0,1 g chế phẩm với vài tinh thể *iod* (TT) trong một ống nghiệm, có tinh thể màu đỏ thăng hoa bám trên thành ống nghiệm. Nếu tinh thể màu vàng tạo thành, cọ bằng đũa thủy tinh, màu của tinh thể sẽ chuyển sang màu đỏ.

D. Cho 0,1 g chế phẩm vào chén nung bằng sứ, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd* 17 %, lắc đều, bốc hơi đến khô và nung. Hòa tan cẩn trọng 5 ml *nước*, acid hóa bằng *acid hydrochloric* (TT). Thêm 3 giọt *nước clor* (TT) và 2 ml *cloroform* (TT), lắc, lớp cloroform có màu nâu vàng.

Phẩm màu

Hòa tan 0,40 g chế phẩm trong 20 ml *nước*, thêm 3 ml *dung dịch acid sulfuric* 10 % (TT) và lọc. Dịch lọc không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu gồm 0,4 ml *dung dịch gốc màu đỏ*, 2,4 ml *dung dịch gốc màu vàng*, 0,4 ml *dung dịch gốc màu xanh* và 16,8 ml *nước* (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Halogenid hòa tan được

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 80 ml *nước*, thêm 10 ml *dung dịch acid nitric* 10 % (TT) và *nước* vừa đủ 100 ml, lắc đều, lọc. Lấy 40 ml dịch lọc vào ống Nessler, thêm

6 ml *dung dịch acid nitric 10 % (TT)* và *nước* vừa đủ 50 ml, thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (TT)*. Lắc kỹ, để yên 5 phút tránh ánh sáng. *Dung dịch* không được đục hoặc nếu đục thì không được đục hơn *dung dịch* đục mẫu được chuẩn bị như sau: Lấy 0,25 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)*, thêm 6 ml *dung dịch acid nitric 10 % (TT)* và *nước* vừa đủ 50 ml, thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (TT)* và tiến hành như mẫu thử.

Muối thủy ngân tan

Dung dịch thử: Lấy 5 ml dịch lọc ở mục phẩm màu, thêm 5 ml *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,040 g *thủy ngân (II) clorid* (cân chính xác) trong *nước* và pha loãng thành 1000 ml với cùng *dung môi*. Lấy 20 ml *dung dịch* này, thêm 3 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Lấy 5 ml *dung dịch* thu được, thêm 5 ml *nước*.

Thêm 1 giọt *dung dịch natri sulfid (TT₂)* vào *dung dịch* thử và *dung dịch* đối chiếu. *Dung dịch* thử không được có màu đậm hơn *dung dịch* đối chiếu.

Hợp chất thủy ngân không tan

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 50 ml *nước*, để yên 24 giờ, ly tâm và rửa cặn với từng lượng nhỏ *nước* cho đến khi *nước* rửa không màu. Chuyển cặn vào bình nón nút mài, thêm đúng 5 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*, để 1 giờ, lắc thường xuyên. Vừa lắc vừa thêm từng giọt một 4,3 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* và thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, màu xanh xuất hiện.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C, 5 h).

Định lượng

Thủy ngân: Cân chính xác khoảng 0,6 g chế phẩm đã tán nhỏ và sấy khô vào bình nón nút mài màu nâu. Hòa tan trong 50 ml *nước*, thêm 8 ml *acid acetic (TT)*, 20 ml *cloroform (TT)* và đúng 30,0 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*, đậy nút bình. Để 1 giờ, lắc mạnh thường xuyên. Chuẩn độ iod thừa bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* với chỉ thị là 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*. Song song làm mẫu trắng.

1 ml *dung dịch iod 0,1 N (TT)* tương đương với 10,03 mg Hg.

Brom: Cân chính xác khoảng 0,5 g chế phẩm đã tán nhỏ và sấy khô vào chén nung bằng sứ, thêm 2 g *kali nitrat (TT)*, 3 g *kali carbonat (TT)* và 3 g *natri carbonat khan (TT)*, trộn đều. Phủ lên bề mặt hỗn hợp 3 g hỗn hợp đồng lượng *kali carbonat (TT)* và *natri carbonat khan (TT)*, nung đến khi chảy hết. Để nguội, hòa tan hỗn hợp đã nung chảy trong 80 ml *nước* ấm, acid hóa bằng *acid nitric (TT)*. Thêm đúng 25,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*. Lắc kỹ và chuẩn độ bạc thừa bằng *dung dịch amoni sulfocyanid 0,1 N*

(*CĐ*) với chỉ thị là 2 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT)*. Song song làm một mẫu trắng.

1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 7,99 mg Br.

Bảo quản

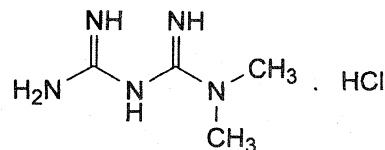
Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc sát trùng ngoài da và vết thương.

METFORMIN HYDROCLORID

Metformini hydrochloridum



$C_4H_{11}N_5.HCl$

P.t.l: 165,6

Metformin hydroclorid là 1,1-dimethylbiguanid hydroclorid phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_4H_{11}N_5.HCl$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể màu trắng, dễ tan trong *nước*, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong aceton và methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của metformin hydroclorid chuẩn.

B. Điểm chảy: Từ 222 °C đến 226 °C (Phụ lục 6.7).

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - butanol - *nước* (10 : 40 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg metformin hydroclorid chuẩn trong 5 ml *nước*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi *dung dịch* trên. Triển khai sắc ký đến khi *dung môi* đi được hơn 15 cm. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 15 phút. Phun lên bản mỏng hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch natri nitroprusiat 10 %*, *dung dịch kali fericyanid 10 %* và *dung dịch natri hydroxyd 10 %* (chuẩn bị trước khi sử dụng 20 phút).

Vết chính trên sắc ký đồ của *dung dịch* thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của *dung dịch* đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

D. Hòa tan 5 mg chế phẩm trong 100 ml nước. Thêm vào 2 ml dung dịch này 0,25 ml dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT) và 0,1 ml dung dịch 1-naphthol (TT). Trộn lẫn, để yên trong nước đá 15 phút, sau đó thêm vào 0,5 ml dung dịch natri hypobromid (TT) và trộn đều. Màu hồng xuất hiện.

E. Chế phẩm cho phản ứng (A) của phép thử Định tính ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 17 g amoni dihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước. Điều chỉnh đến pH 3,0 bằng acid phosphoric (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg cyanoguanidin trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 200,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 10,0 mg melamin (TT) trong khoảng 90 ml nước, thêm 5,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là silica gel được gắn thêm nhóm acid benzen-sulfonic (10 µm) hoặc:

Cột thép không gỉ (11 cm × 4,7 mm) được nhồi pha tĩnh là silica gel được gắn thêm nhóm acid benzen-sulfonic (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 218 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic melamin và pic metformin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải lớn hơn 10.

Tiêm các dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Tiến hành chạy sắc ký dung dịch thử với khoảng thời gian gấp đôi thời gian lưu của pic metformin hydroclorid.

Giới hạn:

Diện tích pic của pic cyanoguanidin trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích của pic cyanoguanidin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,02 %).

Diện tích của bất kỳ pic tạp nào khác trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành thử theo phương pháp 1.

Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 5 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 4 ml acid formic khan (TT), thêm 80 ml acetonitril (TT). Chuẩn độ ngay lập tức bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 16,56 mg C₄H₁₂ClN₅.

Bảo quản

Đựng trong chai lọ nút kín.

Loại thuốc

Chống đái tháo đường.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN METFORMIN

Tabellae Metformini

Là viên nén bao chứa metformin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng metformin hydroclorid, C₄H₁₁N₅.HCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao màu trắng hoặc có màu đồng đều.

Định tính

Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg metformin hydroclorid với 20 ml ethanol (TT). Lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô, sấy cần ở 105 °C trong 1 giờ. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cần thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của metformin hydroclorid.

Tạp chất liên quan (1-cyanoguanidin)

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch amoni dihydrophosphat 1,7 % được chỉnh đến pH 3,0 bằng acid phosphoric (TT).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng 0,5 g metformin hydroclorid với pha động và thêm pha động vừa đủ 100,0 ml, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg 1-cyanoguanidin trong nước và thêm nước vừa đủ 100,0 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 200,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (12,5 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là những tiểu phân silica gel xốp, bề mặt được liên kết với acid benzensulfonic (5 μm) (cột Partisphere 5 μ SCX là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 218 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ thu được bằng nửa thang đo.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với pic 1-cyanoguanidin cũng không được lớn hơn diện tích của pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,02 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu gio quay.

Môi trường: 900 ml dung dịch kali dihydrophosphat 0,68 % được chỉnh đến pH 6,8 bằng dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 233 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng metformin hydroclorid đã hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 806 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 233 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % lượng metformin hydroclorid, $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g metformin hydroclorid, lắc với 70 ml nước trong 15 phút, thêm nước vừa đủ

100,0 ml và trộn đều. Lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc này thành 100,0 ml bằng nước, trộn đều. Tiếp tục pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng nước. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng có cực đại 232 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là nước. Tính hàm lượng metformin hydroclorid theo A (1 %, 1 cm). Lấy 798 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 232 nm.

Bảo quản

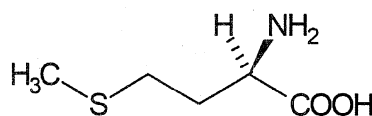
Ở nhiệt độ 15 °C đến 30 °C.

Loại thuốc

Chống đái tháo đường.

Hàm lượng thường dùng

500 mg, 850 mg.

DL-METHIONIN***DL-Methioninum***

và đồng phân đối quang

$C_5H_{11}NO_2S$

P.t.l: 149,2

DL-Methionin là acid (2*RS*)-2-amino-4-(methylsulphanyl) butanoic, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_5H_{11}NO_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay vảy trắng.

Hơi tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Tan trong các dung dịch acid và hydroxyd kiềm loãng. Chảy ở khoảng 270 °C (Phụ lục 6.7, phương pháp 3).

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của DL-Methionin chuẩn, sấy ở 105 °C trước khi thử.

B. Quan sát sắc ký đồ ở mục phép thử Tạp chất liên quan: Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải có vị trí, màu sắc và kích thước tương đương với vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1).

C. Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong dung dịch acid hydrocloric 1 N (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi. Dung dịch thu được phải có góc quay cực từ -0,05° đến +0,05° (Phụ lục 6.4).

D. Hòa tan 0,1 g chế phẩm và 0,1 g glycine (TT) trong 4,5 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT). Thêm

1 ml *dung dịch natri nitroprusiat 2,5 %*. Đun nóng tới 40 °C trong 10 phút. Để nguội, thêm 2 ml hỗn hợp *acid phosphoric - acid hydrochloric (1 : 9)*, xuất hiện màu đỏ đậm.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của *dung dịch S* phải từ 5,4 đến 6,1 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,2 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - butanol (20 : 20 : 60).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml *dung dịch thử (1)* thành 50 ml với *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,02 g DL-methionin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml *dung dịch đối chiếu (1)* thành 10 ml với *nước*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi *dung dịch* trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 10 cm, lấy bản mỏng ra. Để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 15 phút.

Trên sắc ký đồ của *dung dịch thử (1)*, ngoài vết chính, không được có vết nào đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của *dung dịch đối chiếu (2)*.

Clorid

Không được quá 0,02 %.

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong 35 ml *nước*. Thêm 5 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 10 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (TT)*. Để yên tránh ánh sáng 5 phút. *Dung dịch* này không được đục hơn *dung dịch đối chiếu* được chuẩn bị cùng lúc và cùng điều kiện với hỗn hợp gồm 10 ml *dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu (TT)* và 25 ml *nước*. Quan sát trên nền đen.

Sulfat

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.14).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 20,0 ml *nước*, đun nóng tới 60 °C. Làm lạnh xuống 10 °C, lọc. Lấy 15 ml dịch lọc đem thử.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4.

Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,140 g chế phẩm trong 3 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 30 ml *acid acetic khan (TT)*. Ngay sau khi hòa tan, chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 14,92 mg C₅H₁₁NO₂S.

Bảo quản

Bảo quản trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc giải độc paracetamol.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN METHIONIN

Tabellae Methionini

Là viên nén chứa DL-methionin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng methionin, C₅H₁₁NO₂S, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng ngà hoặc hơi ngà vàng, mùi đặc biệt.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - butanol (20 : 20 : 60).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg DL-methionin, thêm 50 ml *nước*. Lắc kỹ để hòa tan. Lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg DL-methionin đối chiếu trong *nước* vừa đủ 50 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl các *dung dịch* trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch ninhydrin 1 % trong ethanol*. Sấy bản mỏng ở 110 °C đến khi xuất hiện vết.

Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có vị trí và màu sắc tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

B. Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g DL-methionin và 0,1 g *glycin* trong 4,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng* (TT), lọc. Thêm vào dịch lọc 1 ml *dung dịch natri nitroprusiat 2,5 %* (TT) mới pha rồi đun ở 40 °C trong 10 phút. Làm lạnh bằng nước đá rồi thêm 2 ml hỗn hợp *acid phosphoric - acid hydrocloric* (1 : 9), lắc, hỗn hợp chuyển thành màu đỏ thẫm.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g DL-methionin cho vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng 75 ml *nước*, lắc, để yên 30 phút, thỉnh thoảng lắc nhẹ, thêm *nước* tới định mức. Lọc qua giấy lọc khô và hứng dịch lọc vào bình khô. Bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc cho vào bình nón nút mài và thêm 1,25 g *dikali hydrophosphat* (TT), 0,5 g *kali dihydrophosphat* (TT), 1 g *kali iodid* (TT) và lắc cho tan hoàn toàn. Thêm chính xác 25 ml *dung dịch iod 0,1 N* (CĐ), đậy nút bình, lắc mạnh và để yên 30 phút tránh ánh sáng. Chuẩn độ iod thừa bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N* (CĐ) với chỉ thị là *dung dịch hồ tinh bột* (TT).

Song song tiến hành một mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch iod 0,1 N* (CĐ) tương đương với 7,461 mg $C_5H_{11}NO_2S$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc trị ngộ độc paracetamol.

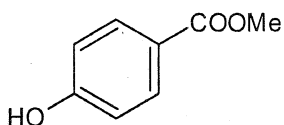
Hàm lượng thường dùng

250 mg.

METHYL PARAHYDROXYBENZOAT

Methylis parahydroxybenzoas

Methylparaben, Nipagin M



$C_8H_8O_3$

P.t.l: 152,1

Methyl parahydroxybenzoat là methyl 4-hydroxybenzoat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_8H_8O_3$.

Tính chất

Chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của methyl parahydroxybenzoat chuẩn.

B. Điểm chảy: 125 °C đến 128 °C (Phụ lục 6.7).

C. Trên sắc ký đồ của phép thử Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2) phải có vị trí và kích thước tương tự với vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

D. Lấy 10 mg chế phẩm vào ống nghiệm, thêm 1 ml *dung dịch natri carbonat 10 %* (TT), đun sôi trong 30 giây và để nguội (dung dịch A). Lấy 10 mg chế phẩm vào một ống nghiệm khác, thêm 1 ml *dung dịch natri carbonat 10 %* (TT), chỉ có một phần chế phẩm hòa tan (dung dịch B). Thêm đồng thời 5 ml *dung dịch aminopyrazolon* (TT) và 1 ml *dung dịch kali fericyanid 5 %* (TT) vào dung dịch A và dung dịch B, trộn đều. Dung dịch B phải có màu vàng đến nâu da cam. Dung dịch A phải có màu da cam đến đỏ, màu này sẽ rõ và đậm hơn màu tương tự xuất hiện ở dung dịch B.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *ethanol 96 %* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. *Dung dịch S* phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu của mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Lấy 2 ml dung dịch S, thêm 3 ml *ethanol 96 %* (TT), 5 ml *nước không có carbon dioxyd* (TT) và 0,1 ml *dung dịch lục bromocresol* (TT). Dung dịch này phải chuyển sang màu xanh lam khi thêm không quá 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (CĐ).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel chứa chỉ thị huỳnh quang có huỳnh quang cực đại ở bước sóng 254 nm.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - methanol (1 : 30 : 70).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *aceton* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *aceton* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng *aceton* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg methyl parahydroxybenzoat chuẩn trong *aceton* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg ethyl parahydroxybenzoat chuẩn trong 1 ml *dung dịch thử (1)* và pha loãng thành 10 ml bằng *aceton* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô bản

mỏng ngoài không khí ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1): bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được đậm màu hơn vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho 2 vết tách biệt rõ ràng.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Lấy 1,000 g chế phẩm, thêm 20,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (CĐ)*. Đun nóng ở 70 °C trong 1 giờ. Làm nguội nhanh trong nước đá. Chuẩn bị một mẫu trắng trong cùng điều kiện. Chuẩn độ natri hydroxyd thừa bằng *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (CĐ)*, tiếp tục chuẩn độ cho đến khi có điểm uốn thứ 2, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (CĐ)* tương đương với 152,1 mg $C_8H_8O_3$.

Bảo quản

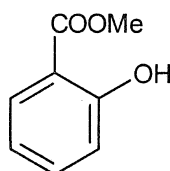
Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Chất bảo quản chống vi khuẩn.

METHYL SALICYLAT

Methylis salicylas



$C_8H_8O_3$

P.t.l: 152,1

Methyl salicylat là methyl 2-hydroxybenzoat, phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % (kl/kl) $C_8H_8O_3$.

Tính chất

Chất lỏng không màu hay màu vàng nhạt.
Rất khó tan trong nước, trộn lẫn được với ethanol 96 %, dầu béo và tinh dầu.

Định tính

A. Đun nóng 0,25 ml chế phẩm với 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* trên cách thủy trong 5 phút. Thêm 3 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Tủa tinh thể được tạo thành. Lọc, rửa tủa bằng nước rồi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C. Tủa này phải có điểm chảy từ 156 °C đến 161 °C (Phụ lục 6.7).

B. Thêm 0,05 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* vào 10 ml dung dịch bão hòa chế phẩm, dung dịch sẽ hiện màu tím.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)* vào 2 ml chế phẩm, dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch màu mẫu V₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 0,2 ml *dung dịch lục bromocresol (TT₁)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT)* đã được trung hòa trước đến màu xanh lam bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* dùng để giữ màu xanh lam không được quá 0,4 ml.

Chỉ số khúc xạ

Phải từ 1,535 đến 1,538 (Phụ lục 6.1).

Tỷ trọng tương đối

Phải từ 1,180 đến 1,186 (Phụ lục 6.5).

Định lượng

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 25 ml *ethanol 96 % (TT)*. Thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)* và trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Thêm 50,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* vào dung dịch đã trung hòa, đun nóng dưới sinh hàn hồi lưu trên cách thủy trong 30 phút. Để nguội, chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*. Tính lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* đã dùng để xà phòng hóa. Song song tiến hành một mẫu trắng. 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 15,21 mg $C_8H_8O_3$.

Bảo quản

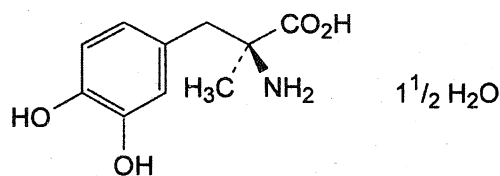
Đựng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc giảm đau.

METHYLDOPA

Methyldopum



$C_{10}H_{13}NO_4 \cdot 1\frac{1}{2}H_2O$

P.t.l: 238,2

Methyldopa là acid (2S)-2-amino-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-methylpropanoic, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{10}H_{13}NO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc trắng ngà, hay tinh thể không màu hoặc gần như không màu. Ít tan trong nước, rất ít tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether. Dễ tan trong các dung dịch acid vô cơ loãng.

Định tính

Chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A

Nhóm II: B, C, D

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của methyldopa chuẩn.

B. Hòa tan 2 mg chế phẩm trong 2 ml nước, thêm 0,2 ml dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT). Màu xanh lục xuất hiện, chuyển thành màu tím lam khi thêm 0,1 g hexamethylen tetramin (TT).

C. Hòa tan 5 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT) và 5 ml nước. Thêm 0,1 ml dung dịch natri nitrit 10 % (TT) có chứa 10 % amoni molybdat (TT). Màu vàng xuất hiện, chuyển sang màu đỏ nâu khi thêm dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT).

D. Lấy khoảng 5 mg chế phẩm, thêm 1 ml nước, 1 ml pyridin (TT) và khoảng 5 mg nitrobenzoyl clorid (TT), đun sôi. Vừa lắc vừa thêm 0,2 ml dung dịch natri carbonat 10 % (TT), xuất hiện màu cam hoặc màu vàng.

Màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch không được đậm màu hơn dung dịch VN₆ hoặc N₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 100 ml nước không có carbon dioxyl (TT) bằng cách đun nóng. Thêm 0,1 ml dung dịch đỏ methyl (TT). Dung dịch phải chuyển sang màu vàng khi thêm không quá 0,5 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ).

Góc quay cực

Từ -1,10° đến -1,23° (Phụ lục 6.4).

Hòa tan một lượng tương đương với 2,20 g chế phẩm khan trong dung dịch nhôm clorid (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT). Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng 230 nm đến 350 nm chỉ có một hấp thụ cực đại ở bước sóng 280 nm. Giá trị A (1 %, 1 cm) ở 280 nm phải từ 122 đến 137, tính theo chế phẩm khan.

Methoxymethyldopa và tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Celulose dùng cho sắc ký.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - butanol (15 : 25 : 65).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 0,4 ml dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT) và 9,6 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg 3-methoxymethyldopa chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Trộn 1 ml dung dịch thử và 1 ml dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch thử, 10 µl dung dịch đối chiếu (1), 20 µl dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm, lấy bản mỏng ra, làm khô bản mỏng ngay lập tức dưới luồng khí ẩm và phun hỗn hợp gồm 5 thể tích dung dịch natri nitrit 5 % và 45 thể tích dung dịch nitroanilin 0,3 % trong hỗn hợp nước - acid hydrocloric (20 : 80). Làm khô bản mỏng ngay lập tức dưới luồng khí ẩm và phun dung dịch natri carbonat 20 %. Quan sát sắc ký đồ ngay. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết nào ngoài vết chính, không được đậm màu hơn vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách biệt rõ ràng.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Dùng 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 2 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Từ 10,0 % đến 13,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,20 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 15 ml acid formic khan (TT), 30 ml acid acetic khan (CĐ) và 30 ml dioxan (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) cho đến khi xuất hiện màu xanh lục, dùng 0,1 ml dung dịch tím tinh thể (TT) làm chỉ thị.

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 21,12 mg C₁₀H₁₃NO₄.

Bảo quản

Bảo quản tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống tăng huyết áp.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN METHYLDOPA**Tabellae Methyldopi**

Là viên nén chứa methyldopa.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng methyldopa, $C_{10}H_{13}NO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Trong phần Độ hòa tan, phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng 230 nm đến 350 nm có hấp thụ cực đại ở khoảng 280 nm.

B. Cân một lượng bột viên tương ứng với 10 mg methyldopa, thêm vài giọt *dung dịch ninhydrin 2 % trong ethanol 96 %*, đun nóng, dần dần xuất hiện màu đỏ tía sẫm.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,05 mg methyldopa/ml. Pha dung dịch methyldopa chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch ở bước sóng 280 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng methyldopa, $C_{10}H_{13}NO_4$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{10}H_{13}NO_4$ của dung dịch chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng methyldopa so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Dung dịch sắt (II) tartrat: Hòa tan 1 g *sắt (II) sulfat (TT)*, 2 g *natri kali tartrat (TT)* và 100 mg *natri metabisulfite (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml. Pha trước khi dùng.

Dung dịch đệm: Hòa tan 50 g *amoni acetat (TT)* trong 1000 ml *ethanol 20 % (TT)*. Điều chỉnh tới pH 8,5 với *dung dịch amoniac 6 M (TT)*.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg methyl-

dopa vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, lắc trong 15 phút, thêm *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* đến định mức. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch methyldopa chuẩn trong *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* có nồng độ chính xác khoảng 1 mg/ml.

Cách tiến hành: Lấy 5,0 ml dung dịch thử cho vào bình định mức 100 ml, thêm 5 ml *dung dịch sắt (II) tartrat*, pha loãng với dung dịch đệm đến định mức, lắc đều. Tiến hành tương tự với 5,0 ml dung dịch chuẩn. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 520 nm, trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là hỗn hợp 5 ml nước và 5 ml *dung dịch sắt (II) tartrat*, pha loãng với dung dịch đệm vừa đủ 100,0 ml.

Tính hàm lượng methyldopa, $C_{10}H_{13}NO_4$, trong viên dựa vào các độ hấp thụ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{10}H_{13}NO_4$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

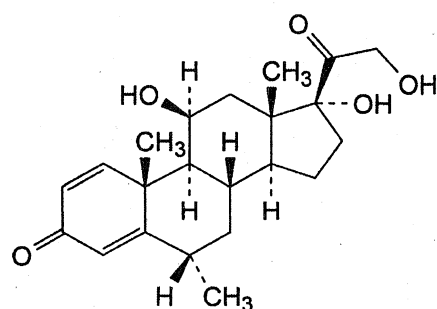
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng

125 mg và 250 mg.

METHYLPREDNISOLON**Methylprednisolonum**

$C_{22}H_{30}O_5$

P.t.l: 374,5

Methylprednisolon là 11 β ,17,21-trihydroxy-6 α -methylpregna-1,4-dien-3,20-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{22}H_{30}O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh đa hình trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, ít tan trong aceton và dicloromethan.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: C, D.

A. Phở hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phở hồng ngoại của methylprednisolon chuẩn. Nếu hai phở không phù hợp thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong một lượng nhỏ nhất *acetone* (TT), bốc hơi trên cách thủy đến khô và lấy các cặn ghi phở mới.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel F₂₅₄.

Dung môi khai triển:

Dung môi I: *Dichloromethane - ether - methanol - nước* (77 : 15 : 8 : 1,2).

Dung môi II: *Ether - toluen - butanol đã bão hòa nước* (80 : 15 : 5).

Dung môi pha mẫu: Dichloromethane - methanol (9 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg methyl prednisolon chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg hydrocortison chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và thêm dung dịch đối chiếu (1) vừa đủ 10 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký lần lượt trong dung môi I, dung môi II cho đến khi mỗi dung môi đi được 15 cm. Sau khi để khô bản mỏng ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol* (TT), sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 10 phút hoặc đến khi hiện vết. Để nguội, quan sát dưới ánh sáng ban ngày và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về màu dưới ánh sáng ban ngày và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại, vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ rệt.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ether - toluen - butanol đã bão hòa nước (85 : 10 : 5).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Pha loãng 2 ml dung dịch này thành 10 ml bằng *dichloromethane* (TT).

Dung dịch thử (2): Lấy 0,4 ml dung dịch A vào một ống nghiệm dài 100 mm, đường kính 20 mm có nút

mài hoặc có nắp bằng polytetrafluoroethylen. Bốc hơi dung môi bằng cách đun nóng nhẹ dưới một luồng khí nitơ. Thêm 2 ml *dung dịch acid acetic băng 15 %* (tt/tt) và 50 mg *natri bismuthat* (TT). Đậy nắp ống nghiệm và lắc hỗn dịch trong 1 giờ (tránh ánh sáng). Thêm tiếp 2 ml *dung dịch acid acetic băng 15 %* (tt/tt) và lọc vào một bình gạn dung tích 50 ml, rửa phễu lọc 2 lần, mỗi lần 5 ml *nước*. Lắc dịch lọc với 10 ml *dichloromethane* (TT). Rửa lớp *dichloromethane* với 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT), sau đó bằng *nước* 2 lần, mỗi lần với 5 ml. Loại nước bằng *natri sulfat khan* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg methyl prednisolon chuẩn trong *methanol* (TT) và thêm *methanol* (TT) vừa đủ 5 ml (dung dịch B). Pha loãng 2 ml dung dịch này thành 10 ml bằng *dichloromethane* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Tiến hành như với dung dịch thử (2) nhưng thay 0,4 ml dung dịch A bằng 0,4 ml dung dịch B.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1); 10 μ l dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, để khô bản mỏng ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và (2) phải phù hợp về vị trí và kích thước với các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2) tương ứng. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol* (TT), sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 15 phút. Để nguội, quan sát dưới ánh sáng ban ngày và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và (2) phải phù hợp về màu dưới ánh sáng ban ngày và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm, vị trí và kích thước với các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2) tương ứng. Các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có giá trị R_f cao hơn hẳn giá trị R_f của các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

D. Thêm khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric* (TT) và lắc để hòa tan. Quan sát trong 5 phút, xuất hiện màu đỏ đậm. Khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm có huỳnh quang màu đỏ nâu. Đồ dung dịch thu được vào 10 ml *nước* và lắc đều, màu nhạt dần và có huỳnh quang màu vàng chanh dưới ánh sáng tử ngoại 365 nm.

Góc quay cực riêng

Từ +79,0° đến +86,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dioxan* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động:

Pha động A: Lấy 250 ml *acetonitril* (TT) vào một bình định mức 1000 ml, thêm 700 ml *nước*, trộn đều và để yên đến khi dung dịch cân bằng và thêm *nước* đến vạch, trộn đều.

Pha động B: *Acetonitril* (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril* - *methanol* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2 mg methylprednisolon chuẩn và 2 mg betamethason chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Nhiệt độ cột: 45 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 2,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành chạy sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Tiến hành
0	100	0	Đẳng dòng
15	100	0	Bắt đầu gradient tuyến tính
40	0	100	Kết thúc sắc ký, quay về 100 % pha động A
41	100	0	Bắt đầu cân bằng với pha động A
46 = 0	100	0	Kết thúc cân bằng, bắt đầu quá trình chạy sắc ký tiếp theo

Cân bằng cột bằng pha động B ít nhất trong 30 phút, sau đó với pha động A trong 5 phút. Với các lần chạy sắc ký tiếp theo, cân bằng như mô tả trong bảng từ

phút 40 đến phút 46. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu bằng ít nhất 50 % của thang đo.

Tiêm dung dịch phân giải. Với các điều kiện sắc ký như trên, thời gian lưu của methylprednisolon vào khoảng 11,5 phút và của betamethason vào khoảng 12,5 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với methylprednisolon và betamethason ít nhất bằng 1,5. Điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động A nếu cần.

Tiêm lần lượt hỗn hợp đồng thể tích acetonitril - methanol làm mẫu trắng, dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: bất kỳ pic nào ngoài pic chính không được có diện tích lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %); tổng diện tích của các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2 %). Bỏ qua các pic của mẫu trắng và các pic có diện tích pic nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) và thêm *ethanol* 96 % (TT) thành 100,0 ml. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *ethanol* 96 % (TT). Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 243 nm, dùng mẫu trắng là *ethanol* 96 % (TT).

Tính hàm lượng $C_{22}H_{30}O_5$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 395 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 243 nm.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Corticosteroid.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN METHYLPREDNISOLON

Tabellae Methylprednisoloni

Là viên nén chứa methylprednisolon.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng methylprednisolon, $C_{22}H_{30}O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

Lấy một lượng bột viên tương ứng với 50 mg methylprednisolon, chiết bằng 100 ml *cloroform* (TT), lọc lấy dịch chiết và bay hơi đến khô. Cẩn thu được làm các phép thử sau:

A. Phở hồng ngoại (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phở hồng ngoại đối chiếu của methylprednisolon.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel F₂₅₄.

Dung môi khai triển:

Dung môi I: *Dicloromethan - ether - methanol - nước* (77 : 15 : 8 : 1,2).

Dung môi II: *Ether - toluen - butanol đã bão hòa nước* (80 : 15 : 5).

Dung môi hòa mẫu: Dicloromethan - methanol (9 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg cần trong dung môi hòa mẫu và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg methylprednisolon chuẩn trong dung môi hòa mẫu và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg hydrocortison chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và thêm dung dịch đối chiếu (1) vừa đủ 10 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký lần lượt trong dung môi I, dung môi II, mỗi dung môi chạy 15 cm. Sau khi để khô bản mỏng ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol* (TT), sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 10 phút hoặc cho đến khi các vết xuất hiện. Để nguội, quan sát dưới ánh sáng ban ngày và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về màu dưới ánh sáng ban ngày và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại (365 nm), về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ rệt.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dicloromethan - ether - methanol - nước (77 : 15 : 8 : 1,2).

Dung môi hòa mẫu: Cloroform - methanol (9 : 1).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 20 mg methylprednisolon với 2 ml dung môi hòa mẫu trong 15 phút. Ly tâm và lấy dịch trong.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng một thể tích dung dịch thử thành 50 thể tích bằng dung môi hòa mẫu.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch đối chiếu (1) thành 4 thể tích bằng dung môi hòa mẫu.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 1 mg hydrocortison trong hỗn hợp gồm 0,1 ml dung dịch thử và 0,9 ml *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được đậm hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (2 %) và không có quá một vết như vậy đậm hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) có 2 vết chính gần nhau nhưng tách rời nhau.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường: 900 ml *nước*.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 256 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng methylprednisolon, $C_{22}H_{30}O_5$, đã hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 400 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 256 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % lượng methylprednisolon so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 10 mg methylprednisolon, lắc với 10 ml *nước* và chiết bằng *cloroform* (TT) với các lượng 100 ml, 50 ml, 50 ml, 40 ml. Rửa mỗi dịch chiết với cùng một lượng 10 ml *nước*. Gộp các dịch chiết, lọc và pha loãng thành 250 ml bằng *cloroform* (TT). Hút chính xác 25 ml dung dịch thu được và bay hơi đến khô. Hòa tan cần trong *ethanol không có aldehyd* (TT) để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 390 μ g đến 410 μ g trong 10 ml. Tiến hành định lượng bằng phương pháp Định lượng các steroid bằng tetrazolium (Phụ lục 10.8).

Bảo quản

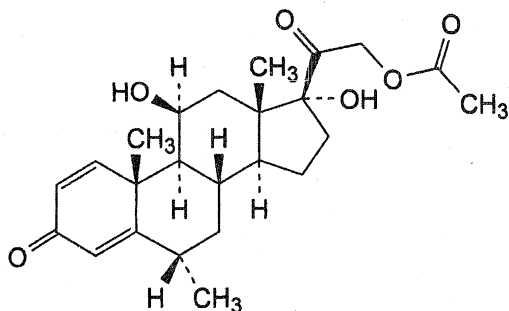
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Corticosteroid.

Hàm lượng thường dùng

2 mg, 4 mg, 8 mg, 16 mg, 24 mg, 32 mg.

METHYLPREDNISOLON ACETAT***Methylprednisoloni acetat***C₂₄H₃₂O₆

P.t.l: 416,5

Methylprednisolon acetat là 11β,17-dihydroxy-6α-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl acetat, phải chứa từ 97,0 đến 103,0 % C₂₄H₃₂O₆, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong aceton và ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của methylprednisolon acetat chuẩn. Nếu hai phổ có sự khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong thể tích tối thiểu *aceton* (TT), bốc hơi đến khô trên cách thủy, lấy các cặn ghi phổ lại.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Butanol - toluen - ether (5 : 10 : 85).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg methylprednisolon acetat chuẩn trong hỗn hợp gồm *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg prednisolon acetat chuẩn và 10 mg methylprednisolon acetat chuẩn trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống

về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol* (TT), sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 10 phút hay đến khi xuất hiện vết, để nguội và quan sát dưới ánh sáng thường và tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về màu sắc dưới ánh sáng thường và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại, vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết có thể không tách hoàn toàn khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Nước - methanol - ether - methylen clorid (1,2 : 8 : 15 : 77).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 5 ml bằng cùng dung môi (dung dịch A). Pha loãng 2 ml dung dịch A thành 10 ml bằng *methylen clorid* (TT).

Dung dịch thử (2): Lấy 2 ml dung dịch A cho vào một ống thủy tinh dung tích 15 ml, có nút mài hay có nắp polytetrafluoroethylen. Thêm 10 ml dung dịch *kali hydrocarbonat* bão hòa trong *methanol* (TT) và ngay lập tức cho luồng khí nitrogen đi qua dung dịch khoảng 5 phút, đẩy nắp. Đun nóng trong cách thủy ở nhiệt độ 45 °C, tránh ánh sáng, trong 1 giờ. Để nguội.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg methylprednisolon acetat chuẩn trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 5 ml bằng cùng dung môi (dung dịch B). Pha loãng 2 ml dung dịch B thành 10 ml bằng *methylen clorid* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Chuẩn bị giống dung dịch thử (2) nhưng thay 2 ml dung dịch A bằng 2 ml dung dịch B.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của các dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu tương ứng. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol* (TT), sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 10 phút hay đến khi xuất hiện vết, để nguội và quan sát dưới ánh sáng thường và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của các dung dịch thử phải giống về màu sắc dưới ánh sáng thường và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại, vị trí và kích thước với vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu tương ứng. Các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có R_f thấp hơn hẳn R_f của các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

D. Cho khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric* (TT) và lắc để hòa tan. Trong vòng 5 phút, màu đỏ đậm xuất hiện. Khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm dung dịch có huỳnh quang nâu đỏ. Đổ dung dịch này vào 10 ml *nước* và lắc đều, màu bị nhạt đi và có huỳnh quang vàng xanh khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 365 nm.

E. 10 mg chế phẩm cho phản ứng định tính của nhóm acetyl (Phụ lục 8.1).

Góc quay cực riêng

Từ + 97° đến + 105°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dioxan* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi để đo.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trong bình định mức 1000 ml, trộn 260 ml *tetrahydrofuran* (TT) với 700 ml *nước*, để yên cho cân bằng, thêm *nước* đến vạch và lắc đều.

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong 5 ml *tetrahydrofuran* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 4 mg methylprednisolon acetat chuẩn và 4 mg dexamethason acetat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *octadecylsilyl silicagel* dành cho sắc ký (5 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột khoảng 45 phút với pha động. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu không dưới 50 % thang đo.

Tiêm dung dịch phân giải, thời gian lưu của pic methylprednisolon acetat khoảng 43 phút và của pic dexamethason acetat khoảng 57 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic methylprednisolon acetat và pic dexamethason acetat ít nhất là 6,5. Nếu cần điều chỉnh nồng độ nước trong pha động.

Tiêm dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1,0 %). Bỏ qua các pic tương ứng với pic của

dung môi và pic có diện tích nhỏ hơn 0,025 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng *ethanol* 96 % (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 243 nm. Tính hàm lượng $C_{24}H_{32}O_6$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 355 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 243 nm.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

THUỐC TIÊM METHYLPREDNISOLON ACETAT

Injectio Methylprednisoloni acetat

Là hỗn dịch vô khuẩn của methylprednisolon acetat trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm được pha chế vô khuẩn.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng methylprednisolon acetat, $C_{24}H_{32}O_6$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Hỗn dịch màu trắng, lắng xuống khi để yên nhưng phân tán dễ dàng khi lắc. Khi kiểm tra dưới kính hiển vi, các tiểu phân có dạng tinh thể và hiếm có tiểu phân có kích thước lớn hơn 20 μm.

Định tính

Pha loãng một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 0,1 g methylprednisolon acetat thành 5 ml với *nước*. Ly tâm và bỏ lớp nước phía trên. Rửa cần 5 lần, mỗi lần với 5 ml *nước* bằng cách phân tán cần trong *nước*, ly tâm và bỏ dịch rửa. Cần thu được, sau khi sấy ở 105 °C trong 3 giờ, làm các phép thử sau:

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ đối chiếu của methylprednisolon acetat.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Kieselguhr* G. Thấm bản mỏng bằng cách đặt bản mỏng vào trong một bình sắc ký có chứa một lớp mỏng hỗn hợp dung môi *acetone* - *formamid* (9 : 1), để dung môi thấm lên hết bản mỏng, lấy bản mỏng ra để bay hơi dung môi và dùng trong vòng 2 giờ.

Dung môi khai triển: *Cloroform*.

Dung môi hòa mẫu: *Cloroform* - *methanol* (9 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg cần trong 10 ml dung môi hòa mẫu.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch methylprednisolon acetat chuẩn 0,25 % trong dung môi hòa mẫu.

Dung dịch đối chiếu (2): Hỗn hợp đồng thể tích dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1)

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên sao cho chiều triển khai sắc ký cùng chiều với chiều thấm bản mỏng. Sau khi lấy bản mỏng ra, để bay hơi dung môi ngoài không khí, sấy ở 120 °C trong 15 phút và phun lên bản mỏng còn nóng **dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)**. Sấy ở 120 °C trong 10 phút hoặc cho đến khi các vết xuất hiện. Để nguội rồi quan sát bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, kích thước và màu dưới ánh sáng ban ngày và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại (365 nm), với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) là một vết đơn.

pH

Từ 3,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp *n*-clorobutan - *n*-clorobutan bão hòa nước - tetrahydrofuran - methanol - acid acetic băng (475 : 475 : 70 : 35 : 30).

Dung dịch chuẩn nội: Cân 0,12 g prednison chuẩn vào bình định mức 20 ml, thêm 0,6 ml acid acetic băng (TT), trộn đều. Thêm chậm cloroform (TT), vừa thêm vừa lắc siêu âm đến khi hòa tan và thêm cloroform (TT) đến định mức.

Dung dịch thử: Lắc hỗn dịch chế phẩm cho đồng nhất, hút một lượng tương đương với 40 mg methylprednisolon acetat vào bình định mức 25 ml. Thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn nội, thêm cloroform (TT) đến định mức, lắc 15 phút hoặc đến khi lớp nước trong. Hút 4,0 ml lớp cloroform, thêm 30 ml cloroform (TT) và 0,4 g natri sulfat khan (TT), lắc 5 phút và dùng dịch trong.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg methylprednisolon acetat chuẩn vào một bình định mức 100 ml, thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội, thêm cloroform (TT) vừa đủ đến vạch.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh A (5 μ m đến 10 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, thời gian

lưu tương đối là khoảng 1,3 với prednison và 1,0 với methylprednisolon acetat. Độ phân giải giữa hai pic không nhỏ hơn 2,5 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic thu được giữa các lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không quá 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng methylprednisolon acetat, $C_{24}H_{32}O_6$, có trong chế phẩm dựa vào tỉ số giữa chiều cao (hoặc diện tích) pic methylprednisolon acetat so với chiều cao (hoặc diện tích) pic prednison thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{24}H_{32}O_6$ trong methylprednisolon acetat chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng, ở nhiệt độ dưới 30 °C. Không được để đông lạnh.

Loại thuốc

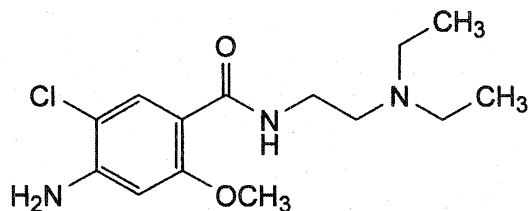
Corticosteroid.

Hàm lượng thường dùng

20 mg/ml, 40 mg/ml, 80 mg/ml.

METOCLOPRAMID

Metoclopramidum



$C_{14}H_{22}ClN_3O_2$

P.t.l: 299,8

Metoclopramid là 4-amino-5-chloro-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-methoxybenzamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101 % $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột mịn, đa hình, màu trắng hoặc gần như trắng.

Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong dicloro-methan, hơi tan đến khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của metoclopramid chuẩn.

B. Điểm chảy của chế phẩm phải từ 145 °C đến 149 °C (Phụ lục 6.7).

C. Ở phần Tạp chất liên quan, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, trước khi phun dung

dịch dimethylaminobenzaldehyd, vết chính trên sắc đồ của dung dịch thử (1) phải giống về vị trí, kích thước với vết chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 25 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT)*. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không đậm hơn màu mẫu V₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

A. Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - dioxan - methanol - dicloromethan (2 : 10 : 14 : 90).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 40 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,160 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg metoclopramid chuẩn và 10 mg sulpirid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg *N,N*-diethylethan-1,2-diamin (*TT*) trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 25 ml bằng *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai bản mỏng đến khi dung môi đi được 12 cm. Để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm (phép thử định tính C). Phun *dung dịch dimethylaminobenzaldehyd (TT)*. Để khô ngoài không khí. Bất cứ vết phụ nào trên sắc đồ của dung dịch thử (2) đều không được đậm màu hơn vết chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1) cho hai vết tách rõ ràng.

B. Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 700 ml *nước*. Thêm 0,2 ml *N,N*-dimethyloctylamin (*TT*) và điều chỉnh pH về 4,0 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)*, pha loãng với *nước* thành 1000 ml, thêm 250 ml *acetonitril (TT)* và trộn đều.

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 0,2 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg tạp chất chuẩn A của metoclopramid trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Trộn 1,0 ml dung dịch thu được với 0,1 ml dung dịch thử và pha loãng với pha động thành 10,0 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 240 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của các pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (2) bằng ít nhất 50 % chiều cao của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (2) độ phân giải giữa hai pic chính không nhỏ hơn 2,0. Tiêm dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch thử. Ghi sắc đồ của dung dịch thử trong khoảng thời gian bằng 8 lần thời gian lưu của metoclopramid. Trên sắc đồ của dung dịch thử: diện tích của bất cứ pic phụ nào ngoài pic chính đều không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %) và tổng diện tích của các pic phụ đó không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,6 %). Bỏ qua các pic với diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Ghi chú:

Tạp chất A: 4-(acetylamino)-5-cloro-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-methoxybenzamid.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*, thêm 5 ml *anhydrid acetic (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 29,98 mg C₁₄H₂₂ClN₃O₂.

Bảo quản

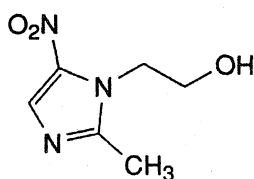
Đựng trong đồ đựng kín.

Loại thuốc

Phòng và chống nôn.

METRONIDAZOL

Metronidazolum



$C_6H_9N_3O_3$

P.t.l: 171,2

Metronidazol là 2-(2-methyl-5-nitro-1H-imidazol-1-yl)-ethanol; phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_6H_9N_3O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc hơi vàng. Khó tan trong nước, trong aceton, ethanol 96 % và trong methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của metronidazol chuẩn.

B. Nhiệt độ nóng chảy: 159 °C đến 163 °C (Phụ lục 6.7).

C. Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Phổ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm (Phụ lục 4.1) có một cực đại hấp thụ tại 277 nm và một cực tiểu tại 240 nm. Độ hấp thụ riêng tại cực đại hấp thụ từ 365 đến 395.

D. Lấy khoảng 10 mg chế phẩm, thêm 10 mg *bột kẽm (TT)*, 1 ml *nước* và 0,25 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Đun nóng trên cách thủy trong 5 phút. Để nguội. Dung dịch thu được cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thu được không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VL₆ (Phụ lục 9.3; phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Chuẩn bị các dung dịch trong điều kiện tránh ánh sáng. *Pha động: Methanol (TT) - dung dịch kali dihydrophosphat 0,01 M (TT)* (30 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,05 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 5,0 mg tạp chất chuẩn A của metronidazol (2-methyl-4-nitroimidazol) trong pha động, thêm 10,0 ml dung dịch thử và loãng thành 100,0 ml với pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 315 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải. Thời gian lưu tương đối của tạp chất chuẩn A so với metronidazol (thời gian lưu khoảng 7 phút) khoảng 0,7. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic không được nhỏ hơn 2,0.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian rửa giải gấp ba lần thời gian lưu của pic metronidazol. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: diện tích bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (0,1 %). Tổng diện tích các pic phụ không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (0,2 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,1 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (0,01 %).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 3 giờ).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CD)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CD)* tương đương với 17,12 mg $C_6H_9N_3O_3$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc tiêm truyền.

THUỐC TIÊM TRUYỀN METRONIDAZOL**Infusio Metronidazoli**

Là dung dịch vô khuẩn của metronidazol trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu đến màu vàng nhạt.

Định tính

Lắc một thể tích thuốc tiêm tương ứng 0,1 g metronidazol với 9 g *natri clorid* (TT) trong 5 phút, rồi thêm 20 ml *aceton* (TT) và lắc 5 phút. Để yên cho tách lớp, lấy lớp dưới đem cách thủy đến khô. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn phải phù hợp với phổ hồng ngoại của metronidazol chuẩn hoặc phổ hồng ngoại đối chiếu của metronidazol.

pH

4,5 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol* - *dung dịch kali dihydrophosphat* 0,01 M (30 : 70).

Dung dịch thử: Lấy chính xác một lượng thể tích chế phẩm và pha loãng bằng pha động để được dung dịch có nồng độ metronidazol 0,1 %.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch chứa 0,0005 % 2-methyl-5-nitroimidazol chuẩn trong pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Chứa 0,00050 % 2-methyl-5-nitroimidazol chuẩn trong dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 μm) (cột Spherisorb ODS là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 315 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch thử trong khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic metronidazol.

Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (2), điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic 2-methyl-5-nitroimidazol bằng khoảng 50 % thang đo. Đo chiều cao (a) của pic 2-methyl-5-nitroimidazol và chiều cao (b) là phần thấp nhất của đường cong giữa pic 2-methyl-5-nitroimidazol và pic metronidazol. Phép thử chỉ có giá trị khi a lớn hơn 10b.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích của pic 2-methyl-5-nitroimidazol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Nitrit

Dung dịch thử: Lấy một thể tích thuốc tiêm tương ứng với 2,5 mg metronidazol, thêm 40 ml *nước*, 2 ml *dung dịch acid sulfanilic* (TT), 2 ml *dung dịch acid aminonaphtalensulfonic* (TT) và thêm *nước* đến 50 ml. Để yên ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ.

Dung dịch đối chiếu: Thay thể tích thuốc tiêm bằng 1 ml *dung dịch nitrit chuẩn 20 phần triệu* (TT) rồi tiến hành như phần dung dịch thử.

Dung dịch mẫu trắng: Thay thể tích thuốc tiêm bằng 1 ml *nước* và tiến hành như phần dung dịch thử.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch đối chiếu và dung dịch thử ở bước sóng cực đại 524 nm. Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

Nội độc tố vi khuẩn

Pha loãng một thể tích chế phẩm (nếu cần) trong *nước BET* để thu được dung dịch có nồng độ 5 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ nội độc tố giới hạn của dung dịch A là 3,5 IU/ml. Tiến hành thử nghiệm sử dụng giá trị pha loãng cực đại của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat sử dụng trong thử nghiệm (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 50 mg metronidazol vào bình định mức 100 ml, pha loãng đến 100 ml bằng *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT). Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 250,0 ml bằng *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 277 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 375 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 277 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng khuẩn, thuốc chống động vật nguyên sinh, thuốc kháng virus.

Hàm lượng thường dùng

500 mg/100 ml.

VIÊN NÉN METRONIDAZOL**Tabellae Metronidazoli**

Là viên nén chứa metronidazol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Cân một lượng bột chế phẩm tương ứng với khoảng 0,3 g metronidazol cho vào một bình nón, thêm 20 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)*, lắc vài phút, lọc. Tiến hành pha loãng dịch lọc trong *dung dịch acid sulfuric 0,5 % trong methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 20 µg/ml. Đo phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 200 đến 400 nm. So sánh với dung dịch chuẩn có nồng độ tương đương, được chuẩn bị trong cùng điều kiện. Phổ hấp thụ của dung dịch chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ của dung dịch metronidazol chuẩn.

B. Trong phần định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic metronidazol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)*.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 60 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng bằng *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)* (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 278 nm trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch metronidazol chuẩn có nồng độ tương đương, pha trong cùng dung môi.

Yêu cầu: Không được ít hơn 85 % lượng metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 phút.

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - methanol (80 : 20). Có thể điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng metronidazol chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,5 mg/ml.

Dung dịch thử: Cho 10 viên thuốc được nghiền thành bột mịn vào một bình định mức có dung tích phù hợp, thêm vào một lượng *methanol (TT)* để hòa tan, lắc siêu âm khoảng 30 phút, pha loãng bằng *methanol (TT)* vừa đủ để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 10 mg/ml. Để yên dung dịch cho tá được lắng xuống. Hút 5,0 ml lớp dung dịch trong ở trên cho vào bình định mức 100 ml, pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, trộn đều và lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Hệ số đối xứng thu được từ pic chính metronidazol không được lớn hơn 2 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trong 6 lần tiêm nhắc lại không được quá 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng, $C_6H_9N_3O_3$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic của metronidazol trong dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_6H_9N_3O_3$ trong metronidazol chuẩn.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng khuẩn.

Hàm lượng thường dùng

200 mg, 400 mg.

VIÊN NÉN METRONIDAZOL VÀ NYSTATIN**Tabellae Metronidazoli et Nystatini**

Là viên nén đặt âm đạo chứa metronidazol và nystatin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc đặt" (Phụ lục 1.10) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng nystatin, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac đậm đặc - nước (70 : 28 : 2 : 4).

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 20 mg metronidazol với 10 ml *ethanol (TT)*, lọc và sử dụng dịch lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch của metronidazol chuẩn có nồng độ 2 mg/ml trong *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

B. Trong phần định lượng metronidazol, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic metronidazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Methanol - toluen - acetone - amoniac đậm đặc (10 : 5 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 100 000 IU nystatin với 10 ml methanol (TT), lọc và sử dụng dịch lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch nystatin chuẩn có nồng độ 10 000 IU/ml trong methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

Dùng 100 mg bột thuốc, sấy trong chân không ở 60 °C trong 3 giờ.

Định lượng

Định lượng metronidazol

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - nước (20 : 80). Có thể điều chỉnh tỉ lệ, nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng metronidazol chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,25 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 25 mg metronidazol vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml pha động và lắc siêu âm để hòa tan. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm đến 10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic metronidazol không lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic metronidazol trong các lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng metronidazol, C₆H₉N₃O₃, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng C₆H₉N₃O₃ của metronidazol chuẩn.

Định lượng nystatin

Chú ý tránh ánh sáng trong quá trình định lượng.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 200 000 IU nystatin, thêm khoảng 30 ml cloroform (TT), lắc kỹ và lọc. Rửa cặn trên giấy lọc nhiều lần với khoảng 50 ml cloroform (TT) và để cặn khô ngoài không khí. Thêm chính xác vào cặn 50,0 ml dimethylformamid (TT) và lắc trong khoảng 1 giờ. Lọc qua giấy lọc và bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc bằng dung dịch đệm số 4 vừa đủ 200,0 ml.

Tiến hành xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

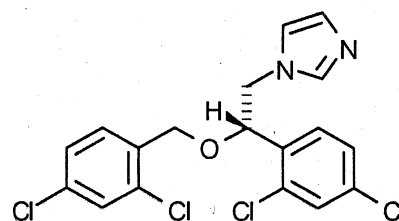
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống nấm.

MICONAZOL

Miconazolum



và đồng phân đối quang

C₁₈H₁₄Cl₄N₂O

P.t.l: 416,1

Miconazol là 1-[(2R)-2-[(2,4-dichlorobenzyl)oxy]-2-(2,4-dichlorophenyl)ethyl]-1H-imidazol, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % C₁₈H₁₄Cl₄N₂O tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng, đa hình. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong methanol, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của miconazol chuẩn.

B. Điểm chảy: 83 °C đến 87 °C (Phụ lục 6.7).

C. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký lớp mỏng.

Dung môi khai triển: Methanol - dioxan - dung dịch amoni acetat (40 : 40 : 20).

Dung dịch thử: Hòa tan 30 mg chế phẩm trong dung môi khai triển và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30 mg miconazol chuẩn trong dung môi khai triển, pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 30 mg miconazol chuẩn và 30 mg econazol nitrat chuẩn trong dung môi khai triển, pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được ít nhất 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng một luồng không khí ẩm trong 15 phút. Để bản mỏng vào bình bão hòa hơi iod cho đến khi xuất hiện các vết. Kiểm tra dưới ánh sáng ban ngày, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) phải cho hai vết tách ra rõ ràng.

D. Trộn khoảng 30 mg chế phẩm với 300 mg *natri carbonat khan (TT)* trong chén nung, đốt trên ngọn lửa khoảng 10 phút. Để nguội, thêm 5 ml *acid nitric loãng (TT)*, lắc kỹ và lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *nước*, dung dịch thu được phải cho phản ứng (A) của phép thử định tính ion clorid (Phụ lục 8.1)

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực

Từ -0,10° đến +0,10°, dùng dung dịch S để đo (Phụ lục 6.4).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 6,0 g *amoni acetat (TT)* trong hỗn hợp gồm 320 ml *methanol (TT)*, 380 ml *nước* và 300 ml *acetonitril (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2,5 mg miconazol chuẩn và 2,5 mg econazol nitrat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 235 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành: Ổn định cột bằng pha động trong khoảng 30 phút.

Tiêm dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ không được dưới 50 % của thang đo.

Tiêm dung dịch phân giải. Với điều kiện sắc ký trên, thời gian lưu của econazol nitrat khoảng 10 phút, miconazol khoảng 20 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa econazol nitrat và miconazol ít nhất bằng 10. Điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, để thời gian rửa giải gấp 1,2 lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,25 %), tổng diện tích của các pic phụ này không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Loại bỏ pic của dung môi và các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 60 °C; trong chân không; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6).

Cân chính xác khoảng 0,300 g chế phẩm, hòa tan trong 50 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích *acid acetic khan (TT)* và 7 thể tích *methyl ethyl keton (TT)*, thêm 0,2 ml *dung dịch naphtholbenzein (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* cho đến khi màu của dung dịch chuyển từ màu vàng da cam sang màu xanh lá.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 41,61 mg C₁₈H₁₄Cl₄N₂O.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Nhãn

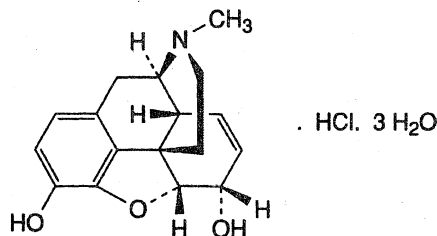
Phải quy định rõ thời hạn sử dụng và điều kiện bảo quản.

Loại thuốc

Kháng nấm.

Chế phẩm

Kem miconazol, gel miconazol.

MORPHIN HYDROCLORID**Morphini hydrochloridum** $C_{17}H_{19}NO_3 \cdot HCl \cdot 3H_2O$

P.t.l: 375,8

Morphin hydroclorid là 4,5 α -epoxy-17-methyl-morphinan-7-en 3,6 α -diol hydroclorid trihydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{17}H_{19}NO_3 \cdot HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng hoặc hình kim không màu hoặc khối vuông không màu, lên hoa ngoài không khí khô.

Tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong toluen.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của morphin hydroclorid chuẩn.

B. Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng dung môi (dung dịch A). Pha loãng 10,0 ml dung dịch A thành 100,0 ml bằng nước. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng từ 250 nm đến 350 nm. Dung dịch phải cho một cực đại hấp thụ ở 285 nm và A (1 %, 1 cm) ở 285 nm khoảng từ 37 đến 43. Pha loãng 10,0 ml dung dịch A thành 100,0 ml bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT). Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng từ 250 nm đến 350 nm. Dung dịch phải cho một cực đại hấp thụ ở 298 nm và A (1 %, 1 cm) ở 298 nm từ 64 đến 72.

C. Thêm 0,5 ml dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT) vào khoảng 1 mg chế phẩm đã được nghiền trong đĩa sứ. Màu đỏ tía sẽ xuất hiện và biến thành màu tím.

D. Chế phẩm phải cho phản ứng của alcaloid (Phụ lục 8.1).

E. Chế phẩm phải cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V₆ hoặc VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,05 ml dung dịch đỏ methyl (TT) vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ) hoặc dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ).

Góc quay cực riêng

Từ -110° đến -115°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Xác định trên dung dịch S.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Thêm 250 ml acetonitril (TT) và 20 ml acid acetic băng (TT) vào 1,08 g natri octansulfonat (TT) và pha loãng thành 1000 ml bằng nước.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,330 g chế phẩm và 0,100 g natri octansulfonat (TT) trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg codein trong 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi octylsilyl silica gel (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 283 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

Thời gian chạy sắc ký: 4 lần thời gian lưu của morphin.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic tương ứng với morphin và pic tương ứng với codein (tạp chất A) ít nhất bằng 9.

Lần lượt tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu. Thời gian lưu tương đối của các pic tạp chất so với pic morphin (thời gian lưu khoảng 4 phút) như sau: tạp chất D (10R-hydroxymorphin) khoảng 0,8; tạp chất A khoảng 1,6; tạp chất C (oripavin) khoảng 2,0 và tạp chất B (pseudomorphin) khoảng 2,4.

Hệ số chuyển đổi: Để tính hàm lượng tạp chất C, nhân diện tích của pic tương ứng với tạp chất C với 0,25.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: Diện tích của pic tương ứng với tạp chất B không được lớn hơn 4 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,4 %); Diện tích của mỗi pic tương ứng với tạp chất A, C, D không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Diện tích bất kỳ pic phụ nào khác trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Tổng diện tích của tất cả các pic phụ ngoài pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn 10 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần so với diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Nước

Từ 12,5 % đến 15,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,100 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml *dung dịch acid hydroclorid 0,01 M (TT)* và 30 ml *ethanol 96 % (TT)*. Tiến hành phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD)*. Đọc thể tích giữa hai điểm uốn của đường chuẩn độ.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD)* tương đương với 32,18 mg $C_{17}H_{20}ClNO_3$.

Bảo quản

Thuốc gây nghiện. Bảo quản trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc giảm đau.

THUỐC TIÊM MORPHIN HYDROCLORID***Injectio Morphini hydrochloridi***

Là dung dịch vô khuẩn của morphin hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng morphin hydroclorid, $C_{17}H_{19}NO_3.HCl.3H_2O$ từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

A. Trong phần định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với

thời gian lưu của pic morphin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Bay hơi đến khô một thể tích chế phẩm tương đương với 5 mg morphin hydroclorid trên cách thủy. Hòa tan cân bằng 5 ml *nước*, thêm một giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, phải xuất hiện ngay màu chàm.

C. Dung dịch chế phẩm phải cho các phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

2,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch *dioctyl natri sulfosuccinat 0,22 %* và *natri acetat 0,14 %* trong *methanol 60 % (TT)*, điều chỉnh đến pH 5,5 bằng *acid acetic băng (TT)*.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg morphin hydroclorid chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *dung dịch dikali hydrophosphat 0,3 M (TT)* pha loãng với *nước* vừa đủ tới vạch. Lắc kỹ để hòa tan, lọc.

Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương đương với 30 mg morphin hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *dung dịch dikali hydrophosphat 0,3 M (TT)* pha loãng với *nước* vừa đủ tới vạch. Lắc kỹ để hòa tan.

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa morphin hydroclorid chuẩn 0,03 % và codein phosphat chuẩn 0,04 % trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm) (cột Nucleosil C18 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 285 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic morphin và codein trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải không nhỏ hơn 2,0.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử, tính hàm lượng của morphin hydroclorid, $C_{17}H_{19}NO_3.HCl.3H_2O$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{17}H_{19}NO_3.HCl.3H_2O$ trong morphin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

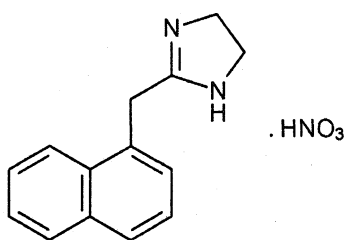
Thuốc gây nghiện. Bảo quản trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Giảm đau do ung thư, phẫu thuật, chấn thương.

Hàm lượng thường dùng

2 mg/ml, 4 mg/ml, 10 mg/ml.

NAPHAZOLIN NITRAT***Naphazolini nitras*** $C_{14}H_{14}N_2 \cdot HNO_3$

P.t.l: 273,3

Naphazolin nitrat là 2-(1-naphthylmethyl)-2-imidazolin nitrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{14}H_{14}N_2 \cdot HNO_3$, tính theo chế phẩm làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.

Hơi tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của naphazolin nitrat chuẩn.

B. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 250,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 25,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT)*. Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm cho 4 cực đại hấp thụ ở 270 nm, 280 nm, 287 nm và 291 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ đo được ở các bước sóng cực đại 270 nm, 287 nm và 291 nm so với độ hấp thụ đo được ở bước sóng cực đại 280 nm phải lần lượt đạt từ 0,82 đến 0,86; từ 0,67 đến 0,70 và từ 0,65 đến 0,69.

C. Điểm chảy: Từ 167 °C đến 170 °C (Phụ lục 6.7).

D. Hòa tan 45 mg chế phẩm trong 2 ml *nước*. Thêm 1 ml *acid sulfuric (TT)*. Lắc cẩn thận và để nguội. Thêm từng giọt, dọc theo thành ống nghiệm 1 ml *dung dịch sắt (II) sulfat (TT)*. Ở phần tiếp giáp giữa 2 lớp chất lỏng xuất hiện một vòng màu nâu.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Dung dịch S có pH từ 5,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 1,1 g *natri octansulfonat (TT)* trong một hỗn hợp gồm 5 ml *acid acetic băng (TT)*, 300 ml *acetonitril (TT)* và 700 ml *nước*.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg *acid 1-naphthylacetic (TT)* (tạp chất B) trong pha động, thêm 5 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg naphthyl-acetylenethyldiamin chuẩn (tạp chất A) trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *octylsilyl silica gel* đã được khóa các nhóm silanol (4 μm) với kích thước lỗ xốp là 6 nm.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành: Tiến hành chạy sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của naphazolin.

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm dung dịch phân giải. Độ phân giải giữa pic tương ứng với naphazolin và tạp chất B ít nhất bằng 5,0. Thời gian lưu của naphazolin khoảng 14 phút.

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử: Diện tích pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %); Diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %); tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %) và bất kỳ pic nào tương ứng với ion nitrat.

Clorid

Không được quá 0,033 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 15 ml dung dịch S để thử.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 30 ml *acid acetic khan* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

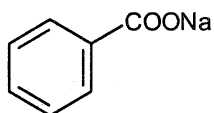
1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 27,33 mg $C_{14}H_{14}N_2.HNO_3$.

Bảo quản

Bảo quản trong chai lọ kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kích thích thần kinh giao cảm.

NATRI BENZOAT**Natrii benzoas**

$C_7H_5NaO_2$

P.t.l: 144,1

Natri benzoat là natri benzencarboxylat, phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $C_7H_5NaO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hay hạt hoặc mảnh màu trắng, hơi hút ẩm. Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 90 % (tt/tt).

Định tính

A. Phải cho phản ứng định tính B và C của ion benzoat (Phụ lục 8.1).

B. Phải cho phản ứng định tính A của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyl* (TT) và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 10 ml *nước không có carbon dioxyl* (TT) và 0,2 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT) vào 10 ml *dung dịch S*. *Dung dịch* phải chuyển màu khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ) hoặc *dung dịch acid hydrochloric 0,1 N* (CĐ).

Hợp chất halogen

Tất cả các dụng cụ thủy tinh được dùng phải không có clorid và phải được chuẩn bị bằng cách ngâm qua đêm trong *dung dịch acid nitric 35 %* (TT), được rửa sạch và ngâm trong nước. Phải có chỉ dẫn rằng dụng cụ thủy tinh được dùng cho phép thử này.

Dung dịch thử: Lấy 20,0 ml *dung dịch S*, thêm 5 ml *nước*, pha loãng thành 50,0 ml bằng *ethanol 96 %* (TT).

Xác định clor đã bị ion hóa

Không được quá 0,02 %.

Trong 3 bình định mức 25 ml, chuẩn bị các *dung dịch* sau:

Dung dịch (1): Thêm vào 4,0 ml *dung dịch thử*, 3 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng* (TT) và 3 ml *ethanol 96 %* (TT). *Dung dịch* này được dùng để chuẩn bị *dung dịch A*.

Dung dịch (2): Thêm vào 3 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng* (TT), 2 ml *nước* và 5 ml *ethanol 96 %* (TT). *Dung dịch* này được dùng để chuẩn bị *dung dịch B*.

Dung dịch (3): Thêm vào 4,0 ml *dung dịch clorid mẫu 8 phần triệu* (TT), 6,0 ml *nước*. *Dung dịch* này dùng để chuẩn bị *dung dịch C*.

Thêm riêng rẽ vào 4 bình định mức 25 ml, (ký hiệu A, B, C, D) lần lượt 10 ml *dung dịch (1)*, 10 ml *dung dịch (2)*, 10 ml *dung dịch (3)* và 10,0 ml *nước*. Thêm vào mỗi bình 5 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat* (TT), trộn đều và thêm từng giọt, vừa thêm vừa lắc, 2 ml *acid nitric* (TT) và 5 ml *dung dịch thủy ngân* (II) *thiocyanat* (TT). Lắc. Pha loãng *dung dịch* trong mỗi bình thành 25,0 ml bằng *nước* và để các bình trong chậu nước ở 20 °C trong 15 phút. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 460 nm trong cốc đo 2 cm của *dung dịch A*, lấy *dung dịch B* làm mẫu trắng và của *dung dịch C*, lấy *dung dịch D* làm mẫu trắng. Độ hấp thụ của *dung dịch A* không được lớn hơn độ hấp thụ của *dung dịch C*.

Xác định clor toàn phần

Không được quá 0,03 %.

Dung dịch (1): Thêm 7,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng* (TT) và 0,125 g *hợp kim nhôm nickel* (TT) vào 10 ml *dung dịch thử*. Đun nóng trên nồi cách thủy 10 phút. Để nguội đến nhiệt độ phòng, lọc vào bình định mức có dung tích 25 ml và rửa phễu lọc 3 lần, mỗi lần với 2 ml *ethanol 96 %* (TT) (tủa nhẹ có thể hình thành rồi biến mất khi acid hóa). Pha loãng dịch lọc và *nước* rửa thành 25,0 ml bằng *nước*. *Dung dịch* này được dùng để chuẩn bị *dung dịch A*.

Dung dịch (2): Chuẩn bị như *dung dịch (1)*, nhưng thay 10,0 ml *dung dịch thử* bằng 10,0 ml hỗn hợp đồng thể tích *ethanol 96 %* (TT) và *nước*. *Dung dịch* này dùng để chuẩn bị *dung dịch B*.

Dung dịch (3): Thêm 4,0 ml *nước* vào 6,0 ml *dung dịch clorid mẫu 8 phần triệu* (TT). *Dung dịch* này dùng để chuẩn bị *dung dịch C*.

Thêm riêng rẽ vào 4 bình định mức 25 ml (ký hiệu A, B, C, D), lần lượt 10 ml *dung dịch (1)*, 10 ml *dung dịch (2)*, 10 ml *dung dịch (3)* và 10 ml *nước*.

Thêm vào mỗi bình 5 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat (TT)*, trộn đều và thêm từng giọt, vừa thêm vừa lắc 2 ml *acid nitric (TT)* và 5 ml *dung dịch thủy ngân (II) thiocyanat (TT)*, lắc. Pha loãng dung dịch trong mỗi bình thành 25,0 ml bằng *nước* và để các bình trong chậu nước ở 20 °C trong 15 phút. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 460 nm, trong cốc đo 2 cm của dung dịch A, dùng dung dịch B làm mẫu trắng và của dung dịch C, dùng dung dịch D làm mẫu trắng. Độ hấp thụ của dung dịch A không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch C.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g chế phẩm; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 20 ml *acid acetic khan (TT)*, làm nóng đến 50 °C nếu cần thiết. Để nguội, dùng 0,05 ml *dung dịch naphtholbenzein (TT)* làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* đến khi màu xanh lục xuất hiện.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 14,41 mg $C_7H_5NaO_2$.

Bảo quản

Trong lọ kín.

Loại thuốc

Chất bảo quản.

NATRI BROMID

Natrii bromidum

NaBr

P.t.l: 102,9

Natri bromid phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % NaBr, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột cốm màu trắng hoặc tinh thể mờ đục hay trong suốt không màu, hơi hút ẩm. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Chế phẩm phải cho phản ứng A của ion bromid (Phụ lục 8.1).

B. Dung dịch S phải cho phản ứng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch acid hydro-cloric 0,01 N (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Bromat

Thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, 0,1 ml *dung dịch kali iodid 10 % (TT)* và 0,25 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Để yên ở chỗ tối trong 5 phút. Không được có màu xanh hoặc tím xuất hiện.

Clorid

Không được quá 0,6 %.

Trong bình nón, hòa tan 1,000 g chế phẩm trong 20 ml *acid nitric loãng (TT)*. Thêm 5 ml *nước oxy già đậm đặc (TT)* và đun nóng trên cách thủy đến khi dung dịch mất màu hoàn toàn. Rửa thành bình bằng một ít *nước* và làm nóng trên cách thủy tiếp trong 15 phút. Để nguội, pha loãng thành 50 ml bằng *nước*, thêm 5,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (TT)* và 1 ml *dibutylphthalat (TT)*. Lắc và chuẩn độ bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 M (CĐ)*, dùng 5 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT)* làm chỉ thị. Thể tích *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (CĐ)* đã dùng không được lớn hơn 1,7 ml. Song song làm mẫu trắng.

Iodid

Thêm 0,15 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* và 2 ml *cloroform (TT)* vào 5 ml dung dịch S. Lắc và để tách lớp. Lớp cloroform không được có màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Sulfat

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 15 ml dung dịch S và tiến hành thử.

Bari

Thêm 5 ml *nước* và 1 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* vào 5 ml dung dịch S. Sau 15 phút, dung dịch không được đục hơn hỗn hợp gồm 5 ml dung dịch S và 6 ml *nước*.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* làm mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 5 ml dung dịch S pha loãng thành 10 ml bằng *nước* để thử.

Magnesi và các kim loại kiềm thổ

Không được quá 0,02 % tính theo Ca (Phụ lục 9.4.16).
Lấy 10,0 g chế phẩm tiến hành thử. Thể tích của *dung dịch natri edetat 0,01 M (CD)* đã dùng không được quá 5,0 ml.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Định lượng

Hòa tan 2,000 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng *dung môi*. Thêm vào 10,0 ml *dung dịch trên 50 ml nước* và 5 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)*, 25,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CD)* và 2 ml *dibutyl phthalat (TT)*, lắc đều. Chuẩn độ bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N (CD)*, dùng 2 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT)* làm chỉ thị và lắc mạnh cho tới kết thúc phép định lượng. 1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CD)* tương đương với 10,29 mg NaBr.

Tính hàm lượng phần trăm của NaBr theo công thức sau :

$$a - 2,902b$$

Trong đó:

a là hàm lượng phần trăm của NaBr và NaCl trong phần định lượng tính theo NaBr;

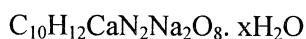
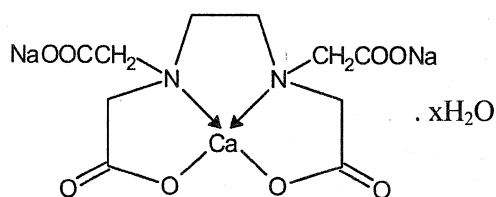
b là hàm lượng phần trăm của Cl trong thử nghiệm giới hạn clorid.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

NATRI CALCI EDETAT

Natrii calcii edetas



P.t.l: 374,3 (khan)

Natri calci edetat là dinatri [(ethylendinitrilo) tetraacetato]calciat (2-) có chứa một lượng không xác định nước kết tinh, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{10}H_{12}CaN_2Na_2O_8$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột trắng hoặc hầu như trắng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong *nước*, thực tế không tan trong ethanol 96 % và ether.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của natri calci edetat chuẩn.

B. Hòa tan 2 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 6 ml *dung dịch chì nitrat (TT)*, lắc và thêm 3 ml *dung dịch kali iodid (TT)*, không được có tua màu vàng xuất hiện. Kiểm hóa *dung dịch trên* bằng cách thêm *dung dịch amoniac 2 M (TT)*, dùng *giấy quỳ đỏ* làm chỉ thị và thêm 3 ml *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)*, sẽ có tua trắng.

C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml *nước*. Kiểm hóa *dung dịch bằng* cách thêm *dung dịch amoniac 2 M (TT)*, dùng *giấy quỳ đỏ* làm chỉ thị và thêm 3 ml *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)*. Tối đa chỉ có tua nhẹ hình thành.

D. Nung chế phẩm. Cần cho phản ứng đặc trưng của ion calci và ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng *dung môi*.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyl (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng *dung môi*. pH của *dung dịch* từ 6,5 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Dinatri edetat

Không được quá 1,0 %.

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 250 ml *nước*. Thêm 10 ml *dung dịch đệm amoniac pH 10,0 (TT)* và khoảng 50 mg *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)*. Lượng *dung dịch magnesi clorid 0,1 M (CD)* dùng để làm thay đổi màu của chỉ thị thành màu tím không được quá 1,5 ml.

Clorid

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.5).

Thêm 30 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* vào 20 ml *dung dịch S*, để yên 30 phút và lọc. Lấy 2,5 ml *dịch lọc* pha loãng với *nước* thành 15 ml để tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 80 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 2,5 ml *dung dịch S*, pha loãng với *nước* thành 10,0 ml và tiến hành thử. Thêm 0,25 g *calci clorid (TT)* vào mỗi ống trước khi thêm *acid mercaptoacetic (TT)*.

Nước

Từ 5,0 đến 13,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,100 g chế phẩm để thử.

Định lượng

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 300 ml nước, thêm 2 g hexamethylentetramin (TT) và 2 ml dung dịch acid hydrochloric loãng (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch chỉ nitrat 0,1 M (CĐ), dùng khoảng 50 mg hỗn hợp da cam xylenol (TT) làm chỉ thị.

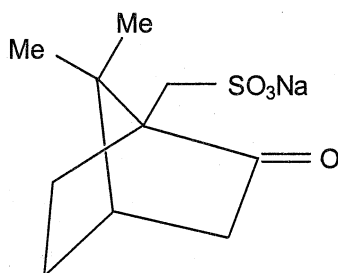
1 ml dung dịch chỉ nitrat 0,1 M (CĐ) tương đương với 37,43 mg $C_{10}H_{12}CaN_2Na_2O_8$.

Bảo quản

Trong lọ nút kín.

Loại thuốc

Làm chất tạo phức điều trị ngộ độc chì.

NATRI CAMPHOSULFONAT**Natrii camphosulfonas**

$C_{10}H_{15}O_4SNa$

P.t.l: 254,3

Natri camphosulfonat là muối natri của acid 10-camphosulfonic (acid 7,7-dimethyl-2-oxobicyclo-[2.2.1] heptan-1-methansulfonic), thu được bằng cách điều chế từ camphor (thiên nhiên hay tổng hợp) với acid sulfuric đậm đặc và anhydrid acetic.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, có mùi long não nhẹ, vị hơi đắng. Dễ bị hút ẩm, vón cục, đổi màu vàng. Rất dễ tan trong nước; tan trong ethanol; ít tan trong ether, benzen, cyclohexan; không tan trong carbon tetrachlorid.

Định tính

A. Điểm chảy: 283 °C đến 286 °C (Phụ lục 6.7).

B. Góc quay cực riêng:

+17,25° đến +19,25° (đối với natri camphosulfonat điều chế từ camphor thiên nhiên).

-1,5° đến +1,5° (đối với natri camphosulfonat điều chế từ camphor tổng hợp, racemic).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước, pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi và tiến hành đo (Phụ lục 6.4).

C. Đun nóng khoảng 1 g chế phẩm với vài viên natri hydroxyd (TT), sẽ bốc mùi đặc trưng của camphor.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 2 g chế phẩm trong 10 ml nước. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của dung dịch iod 0,00005 N.

pH

Hòa tan 1 g chế phẩm trong 10 ml nước không có carbon dioxyd (TT). pH của dung dịch phải từ 6,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Bari

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml nước, thêm 2 giọt dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT) và 2,5 ml dung dịch bão hòa calci sulfat (TT). Dung dịch thu được phải trong.

Clorid

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 15 ml nước và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.4.14).

Hòa tan 0,3 g chế phẩm trong 15 ml nước và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chỉ mẫu 2 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 2,7 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 2 h).

Bảo quản

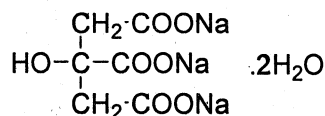
Trong chai lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kích thích thần kinh trung ương (ưu tiên hành não). Dùng kích thích hô hấp và trợ tim.

Chế phẩm

Dung dịch tiêm natri camphosulfonat 10 %; dung dịch uống nhỏ giọt.

NATRI CITRAT**Natrii citras**

$C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$

P.t.l: 294,1

Natri citrat là trinatri 2-hydroxypropan-1,2,3-tricarboxylat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_6H_5Na_3O_7$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể dạng hạt trắng, hút ẩm nhẹ trong không khí ẩm. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Thêm vào 1 ml dung dịch S 4 ml nước, dung dịch thu được phải cho phản ứng của ion citrat (Phụ lục 8.1).

B. 1 ml dung dịch S phải cho phản ứng A của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT) vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ) hoặc *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N* (CĐ).

Chất dễ carbon hóa

Thêm 10 ml *acid sulfuric* (TT) vào 0,20 g chế phẩm đã được nghiền nhỏ và làm nóng trong cách thủy ở $90 \pm 1^\circ\text{C}$ trong 60 phút. Làm lạnh nhanh. Dung dịch có màu không được đậm hơn màu mẫu V₂ hoặc VL₂ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Clorid

Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 10 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Oxalat

Không được quá 0,03 %.

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 4 ml nước. Thêm 3 ml *acid hydrocloric* (TT) và 1 g *kẽm hạt* (TT) vào dung dịch trên, đun nóng trên cách thủy trong 1 phút. Để yên 2 phút, gạn lớp chất lỏng vào ống nghiệm có chứa 0,25 ml *dung dịch phenylhydrazin hydroclorid 1,0 %* và đun đến sôi. Làm nguội nhanh, chuyển vào ống nghiệm có chia vạch, thêm một lượng thể tích tương đương *acid hydrocloric* (TT) và 0,25 ml *dung dịch kali fericyanid 5 %* (TT). Lắc và để yên 30 phút. Màu hồng của dung dịch không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị tương tự trong cùng thời gian nhưng dùng 4 ml *dung dịch acid oxalic 0,005 %* thay cho 0,50 g chế phẩm hòa tan trong 4 ml nước.

Sulfat

Không được quá 0,015 % (Phụ lục 9.4.14).

Thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 %* (TT) vào 10 ml dung dịch S, thêm nước vừa đủ 15 ml và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Từ 11,0 % đến 13,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm. Sau khi thêm chế phẩm, khuấy trong 15 phút trước khi chuẩn độ.

Chất gây sốt

Nếu chế phẩm được dự định dùng để sản xuất dung dịch tiêm với thể tích lớn thì phải đạt phép thử này.

Tiêm cho 1 kg thỏ 10 ml dung dịch vừa mới pha trong nước cất pha tiêm (TT) có chứa 10,0 mg chế phẩm và 7,5 mg *calci clorid* (TT) không có chất gây sốt trong 1 ml (Phụ lục 13.4).

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 20 ml *acid acetic khan* (TT), làm nóng đến khoảng 50°C . Để nguội. Dùng 0,25 ml *dung dịch naphtholbenzein* (TT) làm chỉ thị và chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) đến khi có màu xanh lục.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 8,602 mg C₆H₅Na₃O₇.

Bảo quản

Trong lọ kín.

Loại thuốc

Thuốc kiểm hóa.

NATRI CLORID***Natrii chloridum***

NaCl

P.t.l: 58,44

Natri clorid phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % NaCl, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể không màu. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol.

Định tính

A. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

B. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 20,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol* (TT) vào 20 ml dung dịch S. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N* (CĐ) hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N* (CĐ).

Bromid

Không được quá 50 phần triệu.

Thêm vào 1,0 ml dung dịch S, 4,0 ml nước, 2,0 ml dung dịch đỏ phenol (TT) và 1,0 ml dung dịch cloramin T 0,01 %, trộn đều ngay. Sau đúng 2 phút, thêm 0,15 ml dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (TT), trộn đều và pha loãng thành 10,0 ml bằng nước. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên ở bước sóng 590 nm, dùng nước làm mẫu trắng. Độ hấp thụ của dung dịch trên không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị trong cùng một thời gian, cùng cách tiến hành, nhưng thay 1,0 ml dung dịch S và 4 ml nước bằng 5,0 ml dung dịch kali bromid 0,0003 %.

Ferrocyanid

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 6 ml nước. Thêm 0,5 ml hỗn hợp gồm 5 ml dung dịch sắt (III) amoni sulfat 1 % trong dung dịch acid sulfuric 0,25 % và 95 ml dung dịch sắt (II) sulfat 1,0 %. Màu xanh không được xuất hiện trong vòng 10 phút.

Iodid

Làm ẩm 5,0 g chế phẩm bằng cách thêm từng giọt hỗn hợp vừa mới pha gồm 0,15 ml dung dịch natri nitrit 10 % (TT), 2 ml dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT), 25 ml dung dịch hồ tinh bột (TT) và 25 ml nước. Sau 5 phút, quan sát dưới ánh sáng ban ngày, hỗn hợp chất thử không được có màu xanh.

Nitrit

Thêm 10 ml nước vào 10 ml dung dịch S. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng 354 nm. Độ hấp thụ thu được không được lớn hơn 0,01.

Phosphat

Không được quá 25 phần triệu (Phụ lục 9.4.12).
Pha loãng 2,0 ml dung dịch S thành 100 ml bằng nước và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 7,5 ml dung dịch S thành 30 ml bằng nước và lấy 15 ml dung dịch này tiến hành thử.

Nhôm

Không được quá 0,2 phần triệu (Phụ lục 9.4.9).
Nếu chế phẩm được dự định dùng để sản xuất các dung dịch thẩm tách màng bụng, thẩm tách máu hoặc lọc máu, thì phải đáp ứng yêu cầu phép thử này.
Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 g chế phẩm trong 100 ml nước và thêm 10 ml dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT).
Dung dịch đối chiếu: Gồm 2 ml dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu (TT), 98 ml nước và 10 ml dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT).

Dung dịch mẫu trắng: Gồm 10 ml dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT) và 100 ml nước.

Arsen

Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Dùng 5 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp A.

Bari

Thêm vào 5 ml dung dịch S, 5 ml nước và 2 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT). Sau 2 giờ, dung dịch không được đục hơn hỗn hợp gồm 5 ml dung dịch S và 7 ml nước.

Kim loại nặng

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Lấy 10 ml dung dịch S và tiến hành thử. Dùng hỗn hợp gồm 4 ml dung dịch sắt mẫu 1 phần triệu (TT) và 6 ml nước để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Magnesi và các kim loại kiềm thổ

Không được quá 0,01 % tính theo Ca (Phụ lục 9.4.16).
Dùng 10,0 g chế phẩm.
Thế tích của dung dịch natri edetat 0,01 M (CĐ) đã dùng không được quá 2,5 ml.

Kali

Không được quá 0,05 %.
Nếu được dự định để sản xuất thuốc tiêm có phân liều, hoặc các dung dịch thẩm tách máu, lọc máu, thẩm tách màng bụng, thì chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu phép thử này.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử (Phụ lục 4.4, Phương pháp 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan trong nước 1,144 g kali clorid (TT) đã được sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 3 giờ và pha loãng thành 1000,0 ml bằng nước (dung dịch chứa 600 µg K/ml). Pha loãng theo yêu cầu.
Đo cường độ phát xạ ở 766,5 nm.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 2 h).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được chứa quá 5 đơn vị nội độc tố trong 1 g chế phẩm (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm được dự định để sản xuất các dạng thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào khác để loại nội độc tố thì phải tiến hành phép thử này.

Định lượng

Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Thêm 50 ml nước, 5 ml acid nitric loãng (TT), 25,0 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ) và 2 ml dibutylphthalat (TT) vào 10,0 ml dung dịch trên. Lắc và chuẩn độ bằng dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N (CĐ), dùng 2 ml dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT) làm chỉ thị và lắc mạnh cho tới khi kết thúc phép định lượng.

1 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ) tương đương với 5,844 mg NaCl.

Nhãn

Nhãn cần ghi rõ chế phẩm dùng để sản xuất các dạng thuốc tiêm phân liều hoặc không có nội độc tố vi khuẩn, hoặc dùng để sản xuất các dung dịch thẩm tách màng bụng, thẩm tách máu hoặc lọc máu.

THUỐC NHỎ MẮT NATRI CLORID 0,9 %***Collyrium Natrii chloridi***

Thuốc nhỏ mắt natri clorid là dung dịch vô khuẩn của natri clorid trong nước.

Chế phẩm phải đạt các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nhỏ mắt” (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng natri clorid, NaCl, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong suốt, không màu.

Định tính

Dung dịch chế phẩm cho các phản ứng của ion clorid và ion natri (Phụ lục 8.1)

pH

Từ 6,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Lấy chính xác 10 ml chế phẩm, cho vào bình nón 100 ml, thêm 3 giọt dung dịch kali cromat (TT) làm chỉ thị. Định lượng bằng dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ) đến khi có tủa hồng.

1 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ) tương đương với 5,844 mg NaCl.

Bảo quản

Ở nhiệt độ không quá 25 °C.

Loại thuốc

Rửa mắt.

Hàm lượng thường dùng

0,9 %.

THUỐC TIÊM NATRI CLORID***Injectio Natrii chloridi***

Là dung dịch vô khuẩn của natri clorid trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng natri clorid, NaCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

Chế phẩm phải có phản ứng của ion natri và ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 4,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Lấy chính xác 10,0 ml chế phẩm, cho vào một bình nón có dung tích 100 ml, thêm 3 giọt dung dịch kali cromat (TT) làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ) đến khi có tủa hồng.

1 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ) tương đương với 5,844 mg NaCl.

Bảo quản

Chế phẩm được đóng trong ống thủy tinh 5 ml hàn kín. Để ở nơi nhiệt độ không quá 25 °C.

Loại thuốc

Cung cấp chất điện giải.

Hàm lượng thường dùng

0,9 %.

THUỐC TIÊM TRUYỀN NATRI CLORID**ĐẲNG TRƯỞNG*****Infusio Natrii chloridi isotonica***

Là dung dịch vô khuẩn của natri clorid trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm không được có các chất bảo quản.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” mục “Thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng natri clorid, NaCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

Chế phẩm phải có phản ứng của ion natri và ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 4,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Giới hạn tiểu phân

Khi chế phẩm được đóng ở thể tích 100 ml trở lên, tiến hành xác định giới hạn tiểu phân (Phụ lục 11.8). Chế phẩm phải đạt yêu cầu của phép thử A. Xác định giới hạn tiểu phân không nhìn thấy bằng mắt thường.

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 2,5 EU/ml.

Tiến hành thử theo chuyên luận “ Phép thử nội độc tố vi khuẩn ” (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Lấy chính xác 10,0 ml chế phẩm, cho vào một bình nón có dung tích 100 ml, thêm 3 giọt *dung dịch kali cromat (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* đến khi có tủa hồng.

1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 5,844 mg NaCl.

Bảo quản

Chế phẩm được đóng trong chai thủy tinh trung tính hoặc chai lọ bằng chất dẻo 300 ml, 500 ml, nút kín. Để ở nơi không quá 25 °C.

Loại thuốc

Cung cấp chất điện giải.

Nồng độ thường dùng

0,9 %.

NATRI HYDROCARBONAT**Natrii hydrocarbonas**

NaHCO₃ P.t.l: 84,01

Natri hydrocarbonat phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % NaHCO₃.

Tính chất

Bột kết tinh trắng. Tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %. Khi đun nóng ở trạng thái khô hoặc ở trong dung dịch, sẽ chuyển dần thành natri carbonat.

Định tính

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 90 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi.

A. Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* vào 5 ml dung dịch S, màu hồng nhạt xuất hiện. Đun nóng, khí bay lên và dung dịch có màu đỏ.

B. Dung dịch S phải cho phản ứng của carbonat và hydrocarbonat (Phụ lục 8.1).

C. Dung dịch S phải cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Carbonat

pH của dung dịch S vừa mới pha không được lớn hơn 8,6 (Phụ lục 6.2).

Clorid

Không được quá 0,015 % (Phụ lục 9.4.5).

Thêm vào 7 ml dung dịch S, 2 ml *acid nitric (TT)*, pha loãng thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,015 % (Phụ lục 9.4.14).

Thêm *acid hydrochloric (TT)* vào hỗn dịch chứa 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *nước* đến khi trung tính và thừa khoảng 1 ml rồi pha loãng thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Amoni

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.1).

Lấy 10 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử theo phương pháp A. Dùng hỗn hợp gồm 5 ml *nước* và 10 ml *dung dịch amoni mầu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Arsen

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp A.

Calci

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.3).

Thêm *acid hydrochloric (TT)* vào hỗn dịch chứa 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *nước* cho đến khi trung tính, pha loãng thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 2 ml *acid hydrochloric (TT)* và 18 ml *nước*. Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu làm mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)*, pha loãng thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Định lượng (xem PL-87)

Hòa tan 1,500 g chế phẩm trong 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrochloric 1 N (CĐ)*, dùng 0,2 ml *dung dịch da cam methyl (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 N (CĐ)* tương đương với 84,0 mg NaHCO₃.

Bảo quản

Đựng trong đồ đựng kín.

THUỐC BỘT NATRI HYDROCARBONAT***Pulveres Natrii hydrocarbonas***

Chế phẩm là thuốc bột uống có chứa natri hydrocarbonat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng natri hydrocarbonat, NaHCO_3 , từ 98,5 % đến 100,5 % so với lượng ghi trên nhãn, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng, khô rời không vón cục, vị mặn.

Định tính

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 90 ml *nước không có carbon dioxyl (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi.

A. Lấy 5 ml dung dịch S, thêm vào 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)*, màu hồng nhạt xuất hiện. Đun nóng, khí bay lên và dung dịch có màu đỏ.

B. Chế phẩm cho phản ứng của carbonat và hydrocarbonat (Phụ lục 8.1).

C. Dung dịch S cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).

Carbonat

pH của dung dịch S vừa mới pha không được lớn hơn 8,6 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Hòa tan 1,500 g chế phẩm trong 50 ml *nước không có carbon dioxyl (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrochloric 1 N (CĐ)*, dùng 0,2 ml *dung dịch da cam methyl (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 N (CĐ)* tương đương với 84,0 mg NaHCO_3 .

Bảo quản

Chế phẩm đóng gói trong bao kín, bảo quản ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

Dung dịch làm kiềm hóa, điều hòa cân bằng acid - kiềm.

Hàm lượng thường dùng

5 g, 10 g, 20 g, 50 g, 100 g.

THUỐC TIÊM NATRI BICARBONAT***Injectio Natrii bicarbonas***

Là dung dịch vô khuẩn của natri hydrocarbonat trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm có thể chứa chất ổn định thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng natri hydrocarbonat, NaHCO_3 , từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

Chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của ion natri và ion hydrocarbonat (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 7,5 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).

Chất gây sốt

Theo phương pháp Thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4). Dùng 10 ml chế phẩm đối với thuốc tiêm natri bicarbonat có nồng độ 2,5 % hay ít hơn cho 1 kg trọng lượng thỏ. Đối với chế phẩm có nồng độ natri hydrocarbonat lớn hơn 2,5 % thì pha loãng chế phẩm bằng nước để pha thuốc tiêm không có chất gây sốt để được dung dịch có nồng độ natri hydrocarbonat 2,5 % và dùng 10 ml dung dịch này cho 1 kg trọng lượng thỏ.

Định lượng

Lấy một thể tích chế phẩm tương ứng với 1 g natri hydrocarbonat. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrochloric 0,5 N (CĐ)*, dùng *dung dịch da cam methyl (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,5 N (CĐ)* tương đương với 42,0 mg NaHCO_3 .

Bảo quản

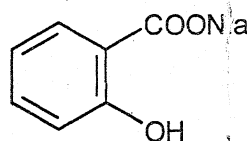
Thuốc thường đóng ống thủy tinh trung tính kín. Để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống acid và thuốc kiềm hóa.

Hàm lượng thường dùng

1,4 %, 4,2 %, 7,5 %, 8,4 %.

NATRI SALICYLAT***Natrii salicylas***

$\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$

P.t.l: 160,1

Natri salicylat là natri 2-hydroxybenzencarboxylat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, pha loãng không màu hay hình vẩy óng ánh, không tan.

Đễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính

A. Lấy vài hạt chế phẩm đưa vào ngọn lửa không màu, ngọn lửa sẽ chuyển thành màu vàng.

B. Lấy khoảng 10 mg chế phẩm hòa tan trong 10 ml nước, thêm 1 giọt dung dịch sắt (III) clorid 3 % (TT), sẽ xuất hiện màu tím.

C. Hòa tan khoảng 1,5 g chế phẩm trong khoảng 20 ml nước, thêm 6 ml dung dịch acid nitric 16 % (TT), sẽ xuất hiện tủa trắng. Lọc, rửa tủa bằng nước và sấy khô trong bình hút ẩm với acid sulfuric (TT), điểm chảy của acid salicylic thu được từ 158 °C đến 161 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Hút 20 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml dung dịch đỏ phenol (TT), dung dịch có màu vàng. Màu của dung dịch phải chuyển sang màu tím đỏ khi thêm không quá 2,0 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ).

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 5 ml dung dịch S, thêm 5 ml nước và 10 ml acid nitric loãng (TT), lọc. Hút 10 ml dịch lọc, pha loãng thành 15 ml với nước và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 2,5 ml dung dịch S, pha loãng thành 15 ml với nước và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 1,50 g chế phẩm trong 15 ml hỗn hợp gồm 5 thể tích nước và 10 thể tích ethanol 96 % (TT). Lấy 12 ml dung dịch tiến hành thử theo phương pháp 2. Dùng 10 ml dung dịch chỉ mẫu 2 phần triệu thu được bằng cách pha loãng từ dung dịch chỉ mẫu 100 phần triệu (TT) với hỗn hợp gồm 5 thể tích nước và 10 thể tích ethanol 96 % (TT), để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do là m khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,1 g của chế phẩm, hòa tan trong 30 ml acid acetic loãng (Phụ lục 7). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric (pháp 2). Xác định điểm

kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

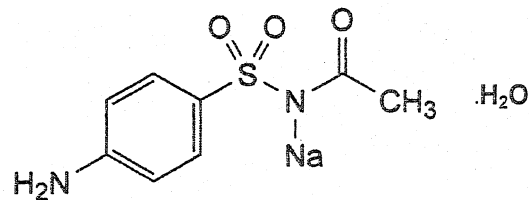
1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 16,01 mg C₇H₅NaO₃.

Bảo quản

Đựng trong chai lọ kín, tránh ánh sáng.

NATRI SULFACETAMID

Sulfacetamidum natricum



C₈H₉N₂NaO₃S.H₂O

P.t.l: 254,2

Natri sulfacetamid là dẫn xuất natri của N-[(4- amino-phenyl)sulphonyl]acetamid, chứa từ 99,0 % đến 101,0 % C₈H₉N₂NaO₃S, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc trắng ánh vàng. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, F.

Nhóm II: B, C, D, E, F.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của natri sulfacetamid chuẩn.

B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT). Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được từ 230 nm đến 350 nm có một cực đại hấp thụ tại 255 nm. Độ hấp thụ riêng tại bước sóng cực đại từ 660 đến 720, tính theo chế phẩm khan.

C. Hòa tan 1 g chế phẩm trong 10 ml nước, thêm 6 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT), lọc lấy tủa. Rửa tủa bằng một lượng nhỏ nước và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 4 giờ. Nhiệt độ nóng chảy của tủa từ 181 °C đến 185 °C (Phụ lục 6.7).

D. Hòa tan khoảng 0,1 g tủa thu được ở phản ứng định tính C trong 5 ml ethanol 96 % (TT). Thêm 0,2 ml acid sulfuric (TT) và đun nóng. Có mùi ethyl acetat bay lên.

E. Hòa tan khoảng 5 mg tủa thu được ở phản ứng định tính C trong 5 ml nước bằng cách đun nóng. Dung dịch thu được cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1) với tủa màu đỏ cam tạo thành.

F. Dung dịch S (phần thử Độ trong và màu sắc của dung dịch) phải cho phản ứng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong 25 ml nước không có carbon dioxyl (TT).

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VL₄ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Dung dịch S có pH từ 8,0 đến 9,5 (Phụ lục 6.2)

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel HF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac - ethanol - nước - butanol (10 : 25 : 25 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 20 ml nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg sulfanilamid chuẩn trong 10 ml nước.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg sulfanilamid chuẩn trong 10 ml dung dịch thử.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí, phun bản mỏng với dung dịch dimethylaminobenzaldehyd (TT₂). Trên sắc ký đồ dung dịch thử, các vết phụ không được đậm hơn vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %) và không được có quá một vết đậm hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) tách ra hai vết rõ ràng.

Sulfat

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.14).

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Thêm 25 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT), lắc trong 30 phút và lọc. Lấy 15 ml dịch lọc để thử.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8)

Lấy 12 ml dịch lọc thu được ở phần thử sulfat tiến hành theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Từ 6,0 % đến 8,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,200 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT) và 50 ml nước. Thêm 3 g kali bromid (TT), làm lạnh dung dịch trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ), xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

1 ml dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ) tương đương với 23,62 mg C₈H₉N₂NaO₃S.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

Chế phẩm

Thuốc nhỏ mắt.

NATRI SULFAT

Natrii sulfas

Na₂SO₄·10H₂O

P.t.l: 322,2

Natri sulfat ngâm 10 phần tử nước phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % Na₂SO₄, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc tinh thể trong suốt không màu.

Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Tan một phần trong nước kết tinh của chính nó ở khoảng 33 °C.

Định tính

A. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion natri và sulfat (Phụ lục 8.1).

B. Chế phẩm phải đáp ứng với phép thử Mất khối lượng do làm khô.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm vào 10 ml dung dịch S 0,1 ml dung dịch xanh bromothymol (TT). Để làm chuyển màu dung dịch này, không được dùng quá 0,5 ml dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (CĐ) hoặc dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ).

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 5 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Arsen

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 10 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp A.

Calci

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.3).

Lấy 10 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S, tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 40 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 5 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 10 ml và tiến hành thử.

Magnesi

Không được quá 0,01 %.

Thêm vào 10 ml dung dịch S 1 ml *glycerin 85 % (TT)*, 0,15 ml *dung dịch vàng titan (TT)*, 0,25 ml *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)* và 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, lắc đều. Dung dịch này nếu có bất kỳ màu hồng nào cũng không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị đồng thời trong cùng một điều kiện, nhưng thay dung dịch S bằng hỗn hợp 5 ml *dung dịch magnesi mẫu 10 phần triệu (TT)* và 5 ml nước.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 52,0 % đến 57,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 30 °C trong 1 h; sau đó 130 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 40 ml nước. Thêm vào hỗn hợp gồm có 0,2 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)* và 80 ml *methanol (TT)*. Chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng *dung dịch chì nitrat 0,1 M (CĐ)*, điện cực chọn lọc chì làm điện cực chỉ thị và điện cực bạc - bạc clorid làm điện cực đối chiếu.

1 ml *dung dịch chì nitrat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 14,20 mg Na_2SO_4 .

Bảo quản

Đựng trong chai, lọ kín.

Loại thuốc

Thuốc xổ.

NATRI SULFAT KHAN***Natrii sulfas exsiccatus***

Na_2SO_4

P.t.l: 142,0

Natri sulfat khan phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % Na_2SO_4 , tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước.

Định tính

A. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion natri và sulfat (Phụ lục 8.1).

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Mất khối lượng do làm khô.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,2 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Để làm chuyển màu dung dịch này, không được dùng quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)* hoặc *dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (CĐ)*.

Clorid

Không được quá 0,045 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 5 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Arsen

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 10 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp A.

Calci

Không được quá 0,045 % (Phụ lục 9.4.3).

Lấy 10 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 45 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S, tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 90 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 5 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 10 ml và tiến hành thử.

Magnesi

Không được quá 0,02 %.

Thêm vào 10 ml dung dịch S 1 ml *glycerin 85 % (TT)*, 0,15 ml *dung dịch vàng titan (TT)*, 0,25 ml *dung dịch*

amoni oxalat 4 % (TT) và 5 ml *dung dịch natri hydroxyd* 2 M (TT), lắc đều. Dung dịch này nếu có màu hồng thì không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện, nhưng thay dung dịch S bằng hỗn hợp 5 ml *dung dịch magnesi mẫu* 10 phần triệu (TT) và 5 ml *nước*.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 130 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 40 ml *nước*. Thêm vào hỗn hợp gồm có 0,2 ml *dung dịch acid hydrochloric* 0,1 M (TT) và 80 ml *methanol* (TT). Chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng *dung dịch chì nitrat* 0,1 M (CĐ), điện cực chọn lọc chì làm điện cực chỉ thị và điện cực bạc - bạc clorid làm điện cực đối chiếu.

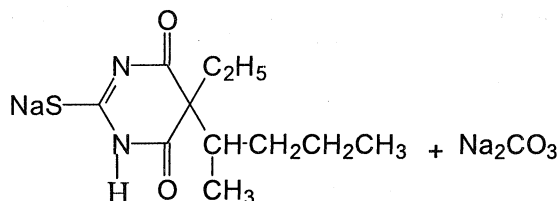
1 ml *dung dịch chì nitrat* 0,1 M (CĐ) tương đương với 14,20 mg Na₂SO₄.

Bảo quản

Đựng trong chai, lọ kín, tránh hút ẩm.

NATRI THIOPENTAL VÀ NATRI CARBONAT

Natrii thiopentalum et natrii carbonas



C₁₁H₁₇N₂NaO₂S

Na₂CO₃

P.t.l: 264,3

P.t.l: 106,0

Natri thiopental và natri carbonat là hỗn hợp của natri (RS)-5-ethyl-5-(1-methylbutyl)-2-thiobarbiturat và natri carbonat khan, phải chứa từ 84,0 % đến 87,0 % C₁₁H₁₈N₂O₂S và từ 10,2 % đến 11,2 % Na, cả hai đều tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng hơi ngà, có mùi giống như tỏi, hút ẩm.

Đễ tan trong nước, tan một phần trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, E.

Nhóm II: A, C, D, E.

A. Acid hóa 10 ml dung dịch S (xem mục Độ trong và màu sắc) bằng *dung dịch acid hydrochloric* 7,3 %, dung dịch sủi bọt. Lắc dung dịch này với 20 ml *ether*

(TT). Tách lấy lớp ether, rửa với 10 ml *nước*, làm khan bằng *natri sulfat khan* (TT), lọc. Làm bay hơi dịch lọc đến khô và sấy căn ở 100 °C đến 105 °C. Xác định điểm chảy (Phụ lục 6.7) của căn. Trộn đồng lượng căn này với thiopental chuẩn và xác định điểm chảy của hỗn hợp. Điểm chảy của căn và của hỗn hợp phải khoảng 160 °C. Sự khác biệt về điểm chảy của 2 mẫu trên không được quá 2 °C.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của căn thu được ở phép thử A phải phù hợp với phổ hồng ngoại của thiopental chuẩn.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - ethanol 96 % - cloroform (5 : 15 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 85 mg thiopental chuẩn trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd* 2 M (TT) và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 18 cm. Quan sát ngay bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của barbiturat có hydro ở nhóm NH không bị thay thế (Phụ lục 8.1).

E. Chế phẩm phải cho phản ứng A của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd* (TT) và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VL₃ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Clorid

Không được quá 0,033 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 5 ml dung dịch S, thêm 35 ml *nước* và 10 ml *dung dịch acid nitric* 2 M (TT). Lắc với *ether* (TT) 3 lần, mỗi lần với 25 ml. Bỏ lớp ether, đun trên cách thủy lớp nước để loại hoàn toàn ether. Dùng 15 ml lớp nước này để thử.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - ethanol 96 % - cloroform (5 : 15 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi, lọc bỏ tủa nếu có.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng nước.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Quan sát ngay bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Ngoài vết chính, bất cứ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (0,5 %). Bỏ qua vết ở vạch xuất phát.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 2,5 % (Phụ lục 9.6).

(0,50 g; sấy trong chân không; 100 °C; 4 h).

Định lượng

Natri: Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 30 ml nước. Chuẩn độ bằng dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (CĐ) và dùng 0,1 ml dung dịch đỏ methyl (TT) làm chỉ thị, đến khi màu của dung dịch chuyển sang đỏ. Đun sôi nhẹ 2 phút, làm nguội, nếu cần thì tiếp tục chuẩn độ bằng dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (CĐ) đến màu đỏ như cũ.

1 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 2,299 mg natri.

Thiopental: Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 5 ml nước, thêm 2 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT) rồi chiết với cloroform (TT) 4 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch chiết cloroform lại, lọc, rửa phễu lọc bằng cloroform (TT), gộp dịch lọc, làm bay hơi dịch lọc đến khô trên cách thủy. Hòa tan cặn trong 30 ml dimethylformamid (TT) đã được trung hòa trước bằng dung dịch lithi methoxyd 0,1 M (CĐ), thêm 0,1 ml dung dịch xanh thymol 0,2 % trong methanol (TT). Chuẩn độ ngay bằng dung dịch lithi methoxyd 0,1 M (CĐ) đến khi dung dịch chuyển sang màu xanh lơ, tránh để dung dịch tiếp xúc với carbon dioxyl của không khí trong suốt quá trình định lượng.

1 ml dung dịch lithi methoxyd 0,1 M (CĐ) tương đương với 24,23 mg C₁₁H₁₈N₂O₂S.

Bảo quản

Trong chai lọ kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Gây mê.

Chế phẩm

Dung dịch tiêm thiopental.

NATRI THIOSULFAT

Natrii thiosulfas

Natri hyposulfit

Na₂S₂O₃·5H₂O

P.t.l: 248,2

Natri thiosulfat phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % Na₂S₂O₃·5H₂O.

Tính chất

Tinh thể trong, không màu, lên hoa trong không khí khô.

Rất tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %, tan trong nước kết tinh của nó ở khoảng 49 °C.

Định tính

Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

A. Lấy 1 ml dung dịch S, thêm vài giọt dung dịch iod 0,1 N (TT), dung dịch mất màu.

B. Lấy 2 ml dung dịch S, thêm 1 ml acid hydrochloric (TT), sẽ xuất hiện tủa lưu huỳnh và có mùi của khí lưu huỳnh dioxyl, khí này sẽ làm xanh giấy tẩm hồ tinh bột có iodat (TT)

C. Lấy 1 ml dung dịch S, thêm 2 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 N (TT), có tủa trắng chuyển nhanh sang vàng rồi dần dần sang đen.

D. Dung dịch S phải cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Dung dịch S phải có pH từ 6,0 đến 8,4 (Phụ lục 6.2).

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 5 ml dung dịch S, thêm 15 ml dung dịch acid nitric 2 M (TT), đun sôi nhẹ trong 3 phút đến 4 phút. Để nguội, lọc, pha loãng dịch lọc thành 25 ml bằng nước. Lấy 12,5 ml dung dịch thu được, pha loãng thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Sulfat và sulfit

Không được quá 0,2 %.

Lấy 2,5 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 10 ml. Hút 3 ml dung dịch thu được, thêm 2 ml dung dịch iod 0,1 N (TT), thêm tiếp từng giọt dung dịch iod 0,1 N (TT) cho đến khi có màu vàng rất nhạt bền vững, rồi pha loãng với nước thành 15 ml, tiến hành thử giới hạn sulfat (Phụ lục 9.4.14).

Sulfid

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,5 ml dung dịch natri nitroprusiat 0,5 % (TT) mới pha, dung dịch không được có màu tím.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 10,0 ml dung dịch S, thêm 0,05 ml *dung dịch natri sulfid (TT)*, để yên 2 phút. Dung dịch này không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu gồm 10 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* và 0,05 ml *dung dịch natri sulfid (TT)*.

Định lượng

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 20 ml *nước* và chuẩn độ bằng *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*. Vào lúc cuối chuẩn độ, thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*.

1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 24,82 mg $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín.

VIÊN NÉN NATRI THIOSULFAT**Tabellae Natrii thiosulfas**

Là viên nén bao tan trong ruột chứa natri thiosulfat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng natri thiosulfat, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao màu đồng nhất, khô.

Độ rã

Viên phải đáp ứng yêu cầu trong mục “Phép thử độ rã của viên bao tan trong ruột” (Phụ lục 11.7).

Định tính

Dung dịch S: Loại bỏ lớp bao của viên, sấy khô, nghiền thành bột mịn. Lấy lượng bột chế phẩm tương ứng với khoảng 1,0 g natri thiosulfat hòa tan trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lọc.

A. Dung dịch S cho phản ứng của ion natri (Phụ lục 8.1).

B. Lấy 1 ml dung dịch S, thêm vài giọt *dung dịch iod 0,1 N (TT)*, màu biến mất.

C. Lấy 1 ml dung dịch S, thêm 1 ml *acid hydrocloric (TT)*, sẽ xuất hiện tủa lưu huỳnh và có mùi của lưu huỳnh dioxyd.

D. Lấy 1 ml dung dịch S, thêm 2 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (TT)*, sẽ xuất hiện tủa trắng chuyển nhanh sang vàng rồi dần dần sang đen.

Định lượng

Cân 20 viên đã loại bỏ lớp bao, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác lượng bột viên nghiền mịn tương ứng khoảng 0,5 g natri thiosulfat, hòa tan trong 20 ml *nước* và chuẩn độ bằng

dung dịch iod 0,1 N (CĐ). Vào lúc cuối chuẩn độ, thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*.

1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 24,82 mg $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Bảo quản

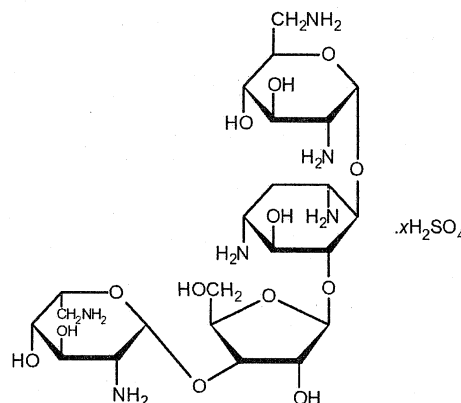
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc giải độc. Chống nấm.

Hàm lượng thường dùng

0,33 g.

NEOMYCIN SULFAT**Neomycini sulfas**

$\text{C}_{23}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_{13} \cdot x\text{H}_2\text{SO}_4$

P.t.l: 615 (dạng base)

Neomycin sulfat là hỗn hợp muối sulfat của các chất được sản xuất bằng cách nuôi cấy một số chủng *Streptomyces fradiae* chọn lọc, thành phần chính là muối sulfat của 2-deoxy-4-O-(2,6-diamino-2,6-dideoxy-α-D-glucopyranosyl)-5-O-[3-O-(2,6-diamino-2,6-dideoxy-β-L-idopyranosyl)-β-D-ribofuranosyl]-D-streptamin (neomycin B). Hoạt lực không được nhỏ hơn 680 IU trong 1 mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc trắng ngà, hút ẩm. Rất dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong acetone.

Định tính

A. Trong phần Neomycin C, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

B. Chế phẩm cho phản ứng A của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

pH

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch có pH từ 5,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +53,5° đến +59,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Neamin

Không được quá 2 %.

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel H.

Dung môi khai triển: Dicloromethan - amoniac - methanol (10 : 20 : 30).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,5 mg neamin chuẩn trong 1,0 ml nước.

Dung dịch đối chiếu (2): Trộn 0,5 ml dung dịch thử và 0,5 ml dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l thành dải 5 mm mỗi dung dịch trên. Để khô vết. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được ít nhất 8 cm. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 10 phút. Phun thuốc thử ninhydrin và kẽm clorid (TT) và sấy bản mỏng ở 110 °C trong 15 phút. Phun bản mỏng lần nữa với thuốc thử trên và sấy lại ở 110 °C trong 15 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, vết tương ứng với neamin không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết chính tách rõ rệt.

Neomycin C

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel.

Dung môi khai triển: Methanol - dung dịch natri clorid 20 % (20 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30 mg framycetin sulfat chuẩn trong nước và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 25,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 40 mg neomycin sulfat chuẩn trong nước và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l thành dải 5 mm mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được ít nhất 12 cm. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 10 phút. Phun dung dịch ninhydrin (TT) và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 10 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, vết neomycin C (có R_f hơi nhỏ hơn R_f của vết chính) không được đậm hơn vết của dung dịch đối chiếu (1) (15 %), nhưng phải đậm hơn vết của dung dịch đối chiếu (2) (3 %). Phép

thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) có một vết với R_f hơi nhỏ hơn R_f của vết chính.

Sulfat

Từ 27,0 % đến 31,0 % sulfat (SO_4) tính theo chế phẩm đã làm khô.

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 100 ml nước và điều chỉnh đến pH 11 bằng amoniac (TT). Thêm 10,0 ml dung dịch bari clorid 0,1 M (CĐ) và khoảng 0,5 mg đồ tia phthalein (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ), khi dung dịch bắt đầu chuyển màu, thêm 50 ml ethanol 96 % (TT), tiếp tục chuẩn độ đến khi màu xanh tím biến mất.

1 ml dung dịch bari clorid 0,1 M (CĐ) tương đương với 9,606 mg sulfat (SO_4).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 60 °C, áp suất không quá 0,7 kPa, phosphor pentoxyd, 3 h).

Tro sulfat

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g.

Định lượng

Tiến hành xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp Thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm aminoglycosid.

Chế phẩm

Viên nén, dung dịch uống, dịch nhỏ mắt, nhỏ tai, mỡ tra mắt, mỡ và kem bôi ngoài da.

THUỐC NHỎ MẮT NEOMYCIN**Collyrium Neomycini**

Thuốc nhỏ mắt neomycin là dung dịch vô khuẩn của neomycin sulfat trong nước.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng neomycin từ 90,0 % đến 130,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong suốt, không màu đến vàng nhạt.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Methanol - amoniac 13,5 M - cloroform (60 : 40 : 20)

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch neomycin sulfat chuẩn 0,5 %.

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa đồng lượng thể tích của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng một lượng thể tích dung dịch chế phẩm tương đương với 3,5 IU neomycin, 1 µl dung dịch đối chiếu (1), 1 µl dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí, phun *dung dịch ninhydrin 1 % trong butanol* và sấy ở 105 °C trong 2 phút.

Vết chính màu đỏ trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, hình dạng, màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) chỉ cho 1 vết chính màu đỏ duy nhất.

B. Dung dịch chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 6,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Lấy chính xác một thể tích chế phẩm có chứa 3 500 IU neomycin vào bình định mức 50 ml, thêm dung dịch đệm số 2 đến định mức. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này với cùng dung môi trên thành 100,0 ml. Tiến hành định lượng theo phương pháp “Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật” (Phụ lục 13.9).

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Điều trị nhiễm khuẩn và viêm kết mạc.

Hàm lượng thường dùng

17 000 IU/10 ml, 34 000 IU/10ml.

NHÔM HYDROXYD KHÔ

Aluminii hydroxydum siccum

Nhôm hydroxyd khô là nhôm oxyd ngậm nước, phải chứa từ 47,0 % đến 60,0 % Al_2O_3 (P.t.l: 102,0).

Tính chất

Bột trắng vô định hình.

Thực tế không tan trong nước, tan trong các acid vô cơ loãng và trong các dung dịch hydroxyd kiềm.

Định tính

Dung dịch S: Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong 7,5 ml *acid hydrochloric (TT)* bằng cách đun nóng trên cách thủy và pha loãng với nước thành 50 ml.

Dung dịch S phải có phản ứng của ion nhôm (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VL₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn kiềm

Lắc 1,0 g chế phẩm với 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* trong một phút và lọc. Thêm vào 10 ml dịch lọc, 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)*. Dung dịch nếu có màu hồng, phải mất màu khi cho thêm 0,3 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (CĐ)*.

Khả năng trung hòa

Tiến hành phép thử ở 37 °C.

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 100 ml *nước*, đun nóng, thêm 100,0 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (CĐ)* đã được làm nóng trước và khuấy liên tục. pH của dung dịch sau 10 phút, 15 phút và 20 phút không được dưới 1,8; 2,3 và 3,0 và ở bất kỳ thời điểm nào cũng không được quá 4,5. Thêm 10,0 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,5 M (CĐ)* đã được làm nóng trước, khuấy liên tục trong một giờ và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* đến pH 3,5. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* đã dùng không được quá 35,0 ml.

Clorid

Không được quá 1 % (Phụ lục 9.4.5).

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* bằng cách làm nóng và pha loãng với nước thành 100 ml. Lấy 5 ml dung dịch này, pha loãng với nước thành 15 ml và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 1 % (Phụ lục 9.4.14).

Pha loãng 4 ml dung dịch S với nước và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Lấy 15 ml dung dịch này tiến hành thử.

Arsen

Không được quá 4 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 10 ml dung dịch S tiến hành thử theo phương pháp A.

Kim loại nặng

Không được quá 60 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Trung hòa 10 ml dung dịch S bằng *amoniac đậm đặc (TT)*, dùng *dung dịch vàng metanil (TT)* làm chỉ thị ngoại. Lọc nếu cần rồi pha loãng với nước thành 15 ml. Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng 10 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Độ nhiễm khuẩn

Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không được quá 1000 trong một gam chế phẩm. Xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6).

Chế phẩm phải đạt các yêu cầu về *Enterobacteria*, các vi khuẩn Gram âm khác và *Escherichia coli* (Phụ lục 13.6).

Định lượng

Hòa tan 0,800 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrochloric 25 % (TT)* bằng cách đun nóng trên cách thủy. Để nguội và pha loãng với nước thành 50,0 ml. Thêm vào 10,0 ml *dung dịch này dung dịch amoniac 6 M (TT)* cho tới khi bắt đầu xuất hiện tủa. Thêm một lượng tối thiểu *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)* cần thiết để hòa tan tủa và pha loãng với nước thành 20 ml. Tiến hành chuẩn độ nhôm theo phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 5,098 mg Al_2O_3 .

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, ở nhiệt độ dưới 30 °C.

Loại thuốc

Kháng acid dạ dày.

NHÔM PHOSPHAT KHÔ

Aluminii phosphas siccum

$\text{AlPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

P.t.l: 122,0 (khan)

Nhôm phosphat khô chủ yếu là nhôm phosphat đã hydrat hóa, phải chứa từ 94,0 % đến 102,0 % AlPO_4 tính trên chế phẩm đã nung.

Tính chất

Bột màu trắng hay gần trắng. Rất khó tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %, tan trong các dung dịch loãng của acid vô cơ và kiềm hydroxyd.

Định tính

Dung dịch S: Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S cho phản ứng đặc trưng của ion nhôm và phản ứng B của ion phosphat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Hỗn dịch chế phẩm 4 % trong nước không có carbon dioxyd (TT) có pH từ 5,5 đến 7,2 (Phụ lục 6.2).

Khả năng trung hòa

Cân 0,50 g chế phẩm, thêm 30 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (CĐ)* ở 37 °C và duy trì nhiệt độ 37 °C trong 15 phút, khuấy liên tục, pH của hỗn hợp này ở 37 °C sau 15 phút phải từ 2,0 đến 2,5 (Phụ lục 6.2).

Arsen

Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Dùng 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp A.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được để thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Clorid

Không được quá 1,3 % (Phụ lục 9.4.5).

Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và pha loãng thành 200 ml bằng nước. Lấy 15 ml dung dịch và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,6 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 8 ml dung dịch S, pha loãng với nước thành 100 ml. Lấy 15 ml dung dịch và tiến hành thử.

Phosphat tan

Không được quá 1,0 % tính theo PO_4^{3-} .

Dung dịch thử: Lắc 5,0 g chế phẩm với 150 ml nước trong hai giờ, lọc và rửa phễu lọc bằng 50 ml nước. Tập trung dịch lọc và nước rửa, thêm nước vừa đủ 250,0 ml. Pha loãng 10 ml dung dịch này với nước thành 100,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,86 g kali dihydrophosphat (TT) trong nước và pha loãng thành 100 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 5 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 3 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 5 ml bằng nước.

Cách tiến hành: Lấy 5,0 ml của mỗi dung dịch trên, thêm vào mỗi dung dịch 4 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, 1 ml *dung dịch amoni molybdat (TT)*, 5 ml nước và 2 ml dung dịch có chứa 0,10 g 4-methylaminophenol sulfat (TT), 0,5 g natri sulfit khan (TT) và 20,0 g natri metabisulfat (TT) trong 100 ml nước. Trộn đều, để yên trong 15 phút và thêm nước vừa đủ 25 ml. Để yên tiếp 15 phút và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng 730 nm.

Tính hàm lượng phosphat tan từ đường chuẩn được thiết lập bởi các dung dịch đối chiếu (1), (2) và (3).

Mất khối lượng do nung

Từ 10,0 % đến 20 %.

Dùng 1,000 g, nung 800 °C đến khối lượng không đổi.

Định lượng

Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)* và pha loãng với nước thành 100,0 ml. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được, thêm

10,0 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* và 30 ml hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch amoni acetat (TT)* và *dung dịch acid acetic loãng (TT)*. Đun sôi trong 3 phút, làm lạnh. Thêm 25 ml *ethanol 96 % (TT)* và 1 ml *dung dịch dithizon 0,025 %* mới pha trong *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ lượng natri edetat 0,1 M thừa bằng *dung dịch kẽm sulfat 0,1 M (CĐ)* đến khi màu chuyển sang hồng.

1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 12,20 mg AlPO_4 .

Bảo quản

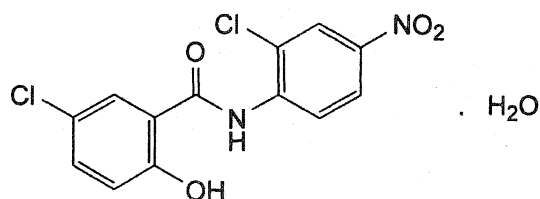
Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Kháng acid dạ dày.

NICLOSAMID MONOHYDRAT

Niclosamidi monohydratum



$\text{C}_{13}\text{H}_8\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

P.t.l: 345,1

Niclosamid monohydrat là 5-cloro-N-(2-cloro-4-nitrophenyl)-2-hydroxybenzamid monohydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể mịn màu vàng.

Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong aceton, khó tan trong ethanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm sau khi đã sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 4 giờ phải phù hợp với phổ hồng ngoại của niclosamid khan chuẩn.

B. Điểm chảy của chế phẩm sau khi đã sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 4 giờ phải từ 227 °C đến 232 °C (Phụ lục 6.7).

C. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, thêm 0,1 g *bột kẽm (TT)*, đun nóng cách thủy 10 phút, làm lạnh và lọc. Thêm vào dịch lọc 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,5 %* và để yên 3 phút. Thêm 2 ml *dung dịch amoni sulphamat 2 %*, lắc, để yên 3 phút và thêm 2 ml *dung dịch naphthyl-*

ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT). Màu tím xuất hiện.

D. Đốt chế phẩm trên lưới đồng bằng ngọn lửa không màu. Ngọn lửa chuyển màu xanh lá cây.

E. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử “Mất khối lượng do làm khô”.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch chứa 0,2 % kali dihydrophosphat, 0,1 % dinatri hydrophosphat, 0,2 % tetrabutylamoni hydrosulfat (1 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *methanol (TT)*, đun nóng nhẹ, làm lạnh và thêm *methanol (TT)* vừa đủ 50,0 ml.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *acetonitril (TT)*. Pha loãng tiếp 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *acetonitril (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (12,5 cm × 4 mm) nhồi octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic niclosamid không thấp hơn 20 % của thang đo. Tiêm dung dịch thử và tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp hai lần thời gian lưu của pic niclosamid. Trên sắc đồ của dung dịch thử: Tổng diện tích của các pic phụ, trừ pic niclosamid và pic dung môi, không được lớn hơn bốn lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 10 % diện tích của pic niclosamid trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu.

Acid 5-clorosalicylic

Không được quá 60 phần triệu.

Dung dịch thử: Thêm 15 ml *nước* vào 0,1 g chế phẩm, đun sôi 2 phút, làm lạnh, lọc qua màng lọc 0,45 μm, rửa màng lọc. Gộp dịch lọc và dịch rửa, pha loãng dịch thu được thành 20,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 30 mg *acid 5-clorosalicylic (TT)* trong 20 ml *methanol (TT)* và pha loãng với *nước* thành 100 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.

Cách tiến hành: Thêm lần lượt 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT)* vào 10,0 ml dung dịch thử và 10,0 ml dung dịch đối chiếu. Màu tím của dung dịch thử không được đậm hơn màu tím của dung dịch đối chiếu.

2-Cloro-4-nitroanilin

Không được quá 0,01 %.

Dung dịch thử: Thêm 5 ml *methanol* (TT) vào 0,250 g chế phẩm đun sôi, làm lạnh. Thêm 45 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M* (TT), đun sôi, làm lạnh, lọc rồi pha loãng dịch lọc thành 50,0 ml với *dung dịch acid hydrochloric 1 M* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg 2-cloro-4-nitroanilin (TT) trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Lấy 1 ml dung dịch thu được pha loãng với *methanol* (TT) thành 100 ml. Lấy 2 ml dung dịch này pha loãng thành 20,0 ml bằng *dung dịch acid hydrochloric 1 M* (TT).

Cách tiến hành: Thêm lần lượt 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 0,5 %* vào 10,0 ml *dung dịch thử* và 10,0 ml *dung dịch đối chiếu*. Để yên 3 phút. Thêm 1 ml *dung dịch amoni sulphamat 2 %*, lắc, để yên trong 3 phút rồi thêm 1 ml *dung dịch naphthylethylenediamin dihydroclorid 0,5 %* (TT). Màu tím hồng tạo thành trong *dung dịch thử* không được đậm hơn màu trong *dung dịch đối chiếu*.

Clorid

Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.4.5).

Thêm hỗn hợp gồm 1,2 ml *acid acetic* (TT) và 40 ml *nước* vào 2,0 g chế phẩm, đun sôi trong 2 phút, làm lạnh và lọc. Lấy 2 ml dịch lọc pha loãng với *nước* thành 15 ml để thử.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 4,5 % đến 6,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,300 g chế phẩm hòa tan trong 80 ml hỗn hợp dung môi đồng thể tích *aceton* (TT) và *methanol* (TT). Định lượng bằng *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M* (CD). Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M* (CD) tương đương với 32,71 mg $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Trị giun sán.

VIÊN NÉN NICLOSAMID

Tabellae Niclosamidi

Là viên nén chứa niclosamid khan hoặc niclosamid monohydrat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng niclosamid, $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu vàng nhạt.

Định tính

Đun nóng một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,5 g niclosamid khan với 25 ml *ethanol 96 %* (TT) nóng, lọc nóng và bay hơi dịch lọc cho tới khô trên cách thủy. Cẩn thu được để làm các phản ứng sau:

A. Phở hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn phải phù hợp với phở hồng ngoại của niclosamid chuẩn. Nếu phở thu được không phù hợp với phở chuẩn thì sấy cặn ở 120 °C trong 1 giờ và ghi phở mới.

B. Phở hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của *dung dịch cặn 0,001 %* trong *ethanol 96 %* (TT) ở bước sóng từ 230 nm đến 360 nm có cực đại hấp thụ ở khoảng 335 nm.

C. Đun nóng 50 mg cặn với 5 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M* (TT) và 0,1 g *kẽm bột* (TT) trong cách thủy 10 phút, làm nguội và lọc. Thêm vào dịch lọc 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 1 %* (TT) và để yên 10 phút. Thêm tiếp vào đó 2 ml *dung dịch amoni sulphamat 2 %*, lắc, để yên 10 phút và thêm vào 2 ml *dung dịch N-(1-naphthyl) ethylenediamin dihydroclorid 0,5 %* (TT), *dung dịch chuyển thành màu tím*.

2-Cloro-4-nitroanilin

Đun sôi một lượng bột viên tương ứng 0,10 g niclosamid khan với 20 ml *methanol* (TT) trong 2 phút, làm nguội, thêm *dung dịch acid hydrochloric 1 M* (TT) vừa đủ 50 ml và lọc. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 0,5 %* (TT) và để yên 10 phút. Thêm 1 ml *dung dịch amoni sulphamat 2 %*, lắc, để yên 10 phút và thêm tiếp 1 ml *dung dịch N-(1-naphthyl) ethylenediamin dihydroclorid 0,5 %* (TT). Màu tạo thành không được đậm hơn màu của *dung dịch* gồm 20 ml *methanol* (TT) chứa 10 µg 2-cloro-4-nitroanilin (TT) được tiến hành đồng thời trong cùng điều kiện, bắt đầu từ “thêm *dung dịch acid hydrochloric 1 M* (TT)...”.

5- Acid clorosalicilic

Đun sôi một lượng bột viên tương ứng 0,50 g niclosamid khan với 10 ml *nước* trong 2 phút, làm nguội, lọc và thêm vào dịch lọc 0,2 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 %* (TT); không có màu đỏ hoặc màu tím tạo thành.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp gồm 50 thể tích *acetonitril* (TT) và 50 thể tích của *dung dịch* chứa 0,2 % *kali dihydrophosphat*, 0,2 % *tetrabutylamoni hydrosulfat* và 0,1 % *dinatri hydrophosphat*.

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng 0,1 g niclosamid khan với 80 ml *methanol* (TT) trong 15 phút, thêm *methanol* (TT) vừa đủ 100,0 ml và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 100 thể tích bằng *acetonitril* (TT) và pha loãng 1 thể tích dung dịch này thành 20 thể tích bằng *acetonitril* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của pic tương ứng với niclosamid không được thấp hơn 20 % chiều cao của thang đo.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử trong khoảng thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic niclosamid.

Trên sắc ký đồ thu được dung dịch thử: Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 4 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Bỏ qua bất cứ pic nào do dung môi và các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 10 % so với diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,3 g niclosamid khan, hòa tan trong 60 ml *dimethylformamid* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch tetrabutyl amoni hydroxyd 0,1 M* (CD). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch *tetrabutyl amoni hydroxyd 0,1 M* (CD) tương ứng với 32,71 mg $C_{13}H_{18}Cl_2N_2O_4$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống giun sán.

Hàm lượng thường dùng

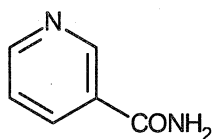
500 mg (tính theo niclosamid khan).

Nhãn

Nhãn phải được ghi rõ thuốc nên nhai trước khi nuốt.

NICOTINAMID

Nicotinamidum



$C_6H_6N_2O$

P.t.l: 122,1

Nicotinamid là pyridin-3-carboxamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_6H_6N_2O$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu hay bột kết tinh màu trắng, có mùi nhẹ và đặc trưng.

Đễ tan trong nước và ethanol, khó tan trong cloroform và ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của nicotinamid chuẩn.

B. Đun sôi 0,1 g chế phẩm với 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT) có mùi amoniac bay ra.

C. Lấy 2 ml dung dịch S, thêm 2 ml *dung dịch cyanogen bromid* (TT) và 3 ml *dung dịch anilin 2,5 %*, lắc đều, màu vàng xuất hiện.

D. Điểm chảy: 128 °C đến 131 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) để được 50 ml.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu NV₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Dung dịch S phải có pH từ 6,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Kim loại nặng

Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Pha loãng 10 ml dung dịch S với nước để được 15 ml.

Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành theo phương pháp 1.

Dùng *dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethanol - nước (48 : 45 : 4).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,4 g chế phẩm trong hỗn hợp đồng thể tích ethanol 96 % (TT) và nước để được 5,0 ml.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử thành 200 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích ethanol 96 % (TT) và nước.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm, lấy bản mỏng ra để khô, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (0,25 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; phosphor pentoxyd; áp suất 1,5 đến 2,7 kPa; 18 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 20 ml *acid acetic khan* (TT), đun nóng nhẹ nếu cần thiết, thêm 5 ml *anhydrid acetic* (TT), sử dụng *dung dịch tím tinh thể* (TT) làm chỉ thị và chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) cho đến khi dung dịch chuyển sang màu xanh lam lục.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 12,21 mg $C_6H_6N_2O$.

Bảo quản

Trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Công dụng

Vitamin nhóm B.

Bào chế

Viên nén, thuốc dạng bột pha tiêm.

VIÊN NÉN NICOTINAMID***Tabellae Nicotinamidi***

Là viên nén chứa nicotinamid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng nicotinamid, $C_6H_6N_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng, không mùi hay gần như không mùi.

Định tính

A. Chiết một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g nicotinamid bằng cách lắc với 25 ml *ethanol* (TT) trong 15 phút, lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô trên cách thủy. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại của nicotinamid chuẩn.

B. Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở phần Định lượng trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm phải có một cực đại hấp thụ ở 262 nm và hai vai ở 258 nm và 269 nm.

C. Chiết một lượng bột viên tương ứng với 50 mg nicotinamid bằng 50 ml *nước* và lọc. Thêm vào 2 ml

dịch lọc 2 ml *dung dịch cyanogen bromid* (TT) và 3 ml *dung dịch anilin 2,5 %* (TT), lắc đều, xuất hiện màu vàng.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel F₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - ethanol 96 % - nước* (48 : 45 : 10).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên có chứa 0,1 g nicotinamid với 15 ml *ethanol* (TT) trong 15 phút, lọc, làm bốc hơi trên cách thủy tới khô và hòa tan cặn trong 1 ml *ethanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 400 lần một thể tích dung dịch (1) với *ethanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai bản mỏng đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử cũng không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (0,25 %).

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương ứng với 50 mg nicotinamid, chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *ethanol 96 %* (TT), lắc trong 15 phút và thêm *ethanol 96 %* (TT) tới định mức, trộn đều, lọc, bỏ 15 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với *ethanol 96 %* (TT) và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 262 nm. Dùng *ethanol 96 %* (TT) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng nicotinamid, $C_6H_6N_2O$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 241 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 262 nm.

Bảo quản

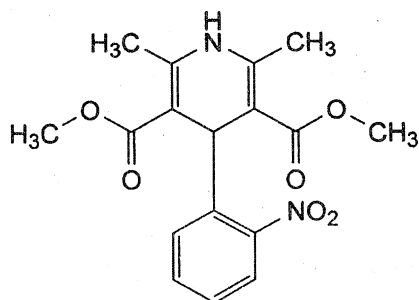
Đóng trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

25 mg, 50 mg.

NIFEDIPIN*Nifedipinum*C₁₇H₁₈N₂O₆

P.t.l: 346,3

Nifedipin là dimethyl 2,6-dimethyl-4-(2-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % C₁₇H₁₈N₂O₆ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton, hơi tan trong ethanol 96 %. Dưới ánh sáng ban ngày hoặc ánh sáng nhân tạo ở bước sóng nhất định, chế phẩm dễ dàng chuyển thành dẫn chất nitrosophenylpyridin. Dưới ánh sáng tử ngoại chế phẩm chuyển thành dẫn chất nitrophenylpyridin. Các dung dịch chế phẩm phải được pha ngay trước khi sử dụng trong tối hoặc dưới ánh sáng có bước sóng dài (> 420 nm) và bảo quản tránh ánh sáng thường hoặc ánh sáng tử ngoại.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của nifedipin chuẩn.

B. Điểm chảy của chế phẩm phải từ 171 °C đến 175 °C (Phụ lục 6.7).

C. Tiến hành sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - cyclohexan (40 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg nifedipin chuẩn trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai bản mỏng trong bình không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô ngoài không khí. Quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Trong ống nghiệm chứa 25 mg chế phẩm thêm 10 ml dung dịch hỗn hợp gồm 1,5 thể tích *acid hydrochloric* (TT); 3,5 thể tích *nước* và 5 thể tích *ethanol* 96 % (TT). Đun nóng nhẹ để hòa tan. Thêm 0,5 g *kẽm hạt* (TT), để 5 phút, thỉnh thoảng khuấy nhẹ. Lọc sang ống nghiệm thứ hai rồi thêm 5 ml *dung dịch natri nitrit* 1 % (TT) vào dịch lọc. Để yên trong 2 phút. Thêm 2 ml *dung dịch amoni sulphamat* 5 %. Lắc mạnh rồi thêm 2 ml *dung dịch naphthylethyldiamin dihydroclorid* 0,5 % (TT). Màu đỏ đậm xuất hiện và bền trong ít nhất 5 phút.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril - methanol - nước* (9 : 36 : 55).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 20 ml *methanol* (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg tạp chất chuẩn A của nifedipin trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg tạp chất chuẩn B của nifedipin trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Trộn 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1), 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2), và 0,1 ml dung dịch thử rồi pha loãng với pha động thành 20,0 ml. Lấy 2,0 ml dung dịch thu được thêm pha động vừa đủ 10,0 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C dùng cho sắc ký (5 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 235 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch đối chiếu (3). Khi sắc đồ được ghi trong điều kiện trên, các chất sẽ phân giải theo thứ tự: Tạp chất A, tạp chất B, nifedipin. Thời gian lưu của nifedipin là khoảng 15,5 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc đồ thu được với dung dịch đối chiếu (3) cho: Độ phân giải giữa hai pic tương ứng với tạp chất A và tạp chất B lớn hơn 1,5; độ phân giải giữa hai pic tương ứng với tạp chất B và nifedipin lớn hơn 1,5; pic tương ứng với tạp chất A có chiều cao không dưới 20 % chiều cao của thang đo. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3) và tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian bằng hai lần thời gian lưu của nifedipin. Trên sắc đồ thu được với dung dịch thử: Không được có pic nào, trừ pic chính và hai pic tương ứng với tạp chất A và tạp chất B, có diện tích lớn hơn diện tích của pic tương ứng với nifedipin trên sắc đồ thu được với dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %); diện tích của các pic tương ứng với tạp chất A và B không

được lớn hơn các pic tương ứng trên sắc đồ thu được với dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %); tổng diện tích tạp chất liên quan không quá 0,3 %. Loại bỏ các pic có diện tích dưới 10 % so với diện tích của pic tương ứng với nifedipin trên sắc đồ thu được với dung dịch đối chiếu (3).

Ghi chú:

Tạp chất A: Dimethyl 2,6-dimethyl-4-(2-nitrophenyl)-pyridin-3,5-dicarboxylat.

Tạp chất B: Dimethyl 2,6-dimethyl-4-(2-nitrosophenyl)-pyridin-3,5-dicarboxylat).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 2 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,1300 g chế phẩm hòa tan trong hỗn hợp gồm 25 ml 2-methyl-2-propanol (TT) và 25 ml acid percloric (TT). Thêm 0,1 ml dung dịch feroiin sulfat (TT) và định lượng từ từ bằng dung dịch ceri sulfat 0,1 M (CĐ) cho đến khi mất màu hồng. Song song tiến hành với mẫu trắng.

1 ml dung dịch ceri sulfat 0,1 M (CĐ) tương đương với 17,32 mg $C_{17}H_{18}N_2O_6$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Điều trị cao huyết áp.

Chế phẩm

Viên nang, viên nén.

VIÊN NÉN NIFEDIPIN

Tabellae Nifedipini

Là viên nén bao chứa nifedipin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng nifedipin, $C_{17}H_{18}N_2O_6$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tiến hành thử trong điều kiện tránh ánh sáng hay dưới ánh sáng có bước sóng dài (lớn hơn 420 nm). Pha các dung dịch ngay trước khi sử dụng trong điều kiện tránh ánh sáng. Dùng dụng cụ thủy tinh nâu.

Tính chất

Viên bao màu đồng nhất.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng từ 220 nm đến 355 nm có hấp thụ cực đại ở khoảng 237 nm.

B. Trong phần Độ hòa tan, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic nifedipin trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - nước (3 : 2).

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 25 mg nifedipin, thêm 25,0 ml methanol (TT), lắc siêu âm 15 phút, lọc. Sử dụng dịch lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 100,0 mg tạp chất nifedipin A (hợp chất tương tự nitrophenylpyridin) chuẩn và 50,0 mg tạp chất nifedipin B (hợp chất tương tự nitrosophenylpyridin) chuẩn trong methanol (TT) vừa đủ 100,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Trộn 1,0 ml dung dịch thử và 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1), pha loãng thành 100,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 235 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (2), điều chỉnh sao cho chiều cao của pic tạp chất nifedipin A bằng 20 % thang đo. Hệ số phân giải giữa pic tạp chất nifedipin A và pic tạp chất nifedipin B ít nhất là 1,5; hệ số phân giải giữa pic tạp nifedipin B và pic nifedipin ít nhất là 1,0.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử trong khoảng thời gian gấp hai lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với tạp chất nifedipin A không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic tạp chất nifedipin A trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %) và diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với tạp chất nifedipin B không được lớn hơn diện tích của pic tạp chất nifedipin B trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch natri laurylsulfat 0,25 %.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 60 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Sử dụng dịch lọc. Pha dung dịch chuẩn như sau: Pha loãng dung dịch nifedipin chuẩn 0,025 % trong methanol

(TT) với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 10 µg/ml. Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng như mô tả trong mục Tạp chất liên quan. Tính lượng nifedipin, $C_{17}H_{18}N_2O_6$, đã hòa tan trong mỗi viên.

Yêu cầu: Không được ít hơn 65 % lượng nifedipin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 phút.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Lấy 1 viên, loại bỏ lớp vỏ bao, nghiền trong cối với 2 ml *cloroform* (TT). Dùng *ethanol* (TT) chuyển vào bình định mức 50 ml, thêm *ethanol* (TT) đến định mức, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *ethanol* (TT) để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,04 mg nifedipin/ml. Tiếp tục tiến hành như mô tả ở mục Định lượng, bắt đầu từ “Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1)...”.

Định lượng

Loại bỏ lớp vỏ bao, cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg nifedipin chuyển vào cối, nghiền với 2 ml *cloroform* (TT). Dùng *ethanol* (TT) chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm *ethanol* (TT) đến định mức, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml với *ethanol* (TT), lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 333 nm, cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là *ethanol* (TT).

Tính hàm lượng nifedipin, $C_{17}H_{18}N_2O_6$, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 140 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 333 nm.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

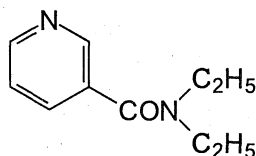
Điều trị đau thắt ngực và tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng

10 mg.

NIKETHAMID

Nikethamidum



$C_{10}H_{14}N_2O$

P.t.l: 178,2

Nikethamid là N,N-diethylpyridin-3-carboxamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{10}H_{14}N_2O$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Chất lỏng sánh như dầu hoặc khối kết tinh không màu hoặc màu hơi ánh vàng. Có thể trộn lẫn với nước, cloroform, ethanol 96 % và ether ở bất kỳ tỷ lệ nào.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: A, C, D.

A. Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm trong cốc đo dày 2 cm của dung dịch 0,0015 % trong dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT) chỉ có một cực đại hấp thụ ở 263 nm và A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 263 nm khoảng 285.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của nikethamid chuẩn.

C. Đun nóng 0,1 g chế phẩm với 1 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT). Diethylamin được tạo ra có thể nhận biết bằng mùi đặc trưng và bằng sự chuyển màu giấy quỳ đỏ thành xanh.

D. Thêm 2 ml dung dịch cyanogen bromid (TT) và 3 ml dung dịch anilin 2,5 % (TT) vào 2 ml dung dịch chế phẩm 0,1 % và lắc, màu vàng xuất hiện.

pH

pH của dung dịch 25 % từ 6,0 đến 7,8 (Phụ lục 6.2).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Chế phẩm ở dạng lỏng hoặc được làm lỏng bằng cách đun nóng nhẹ phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu của mẫu V₅ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chỉ số khúc xạ

Từ 1,524 đến 1,526 (Phụ lục 6.1).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Propanol - cloroform (25 : 75).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,4 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40 mg ethylnicotinamid chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết nào tương ứng với ethylnicotinamid trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và bất kỳ vết phụ nào khác ngoài vết chính

và vết tương ứng với ethylnicotinamid không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch chế phẩm 10 % trong nước tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 0,3 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 2,000 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml *acid acetic khan (TT)* và 5 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)* tương đương với 17,82 mg $C_{10}H_{14}N_2O$.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kích thích hô hấp.

THUỐC GIỌT NIKETHAMID

Solutio Nikethamidi

Là dung dịch thuốc chứa nikethamid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Dung dịch thuốc" (Phụ lục 1.3) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng nikethamid, $C_{10}H_{14}N_2O$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu hoặc hơi vàng.

Định tính

A. Lấy 1 ml chế phẩm, kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*, chiết với 5 ml *dicloromethan (TT)*. Dịch chiết được bốc hơi dung môi đến gần khô trên cách thủy dưới luồng khí nitơ. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của sản phẩm thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại của nikethamid chuẩn.

B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm, trong cốc đo dày 1 cm của dung dịch thu được ở phần định lượng, chỉ có một cực đại hấp thụ ở 263 nm.

Định lượng

Pha loãng 5,0 ml chế phẩm thành 500,0 ml với nước. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch này, thêm 5 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT)* và pha loãng với nước cất thành 500,0 ml, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 263 nm, dùng cốc dày 1 cm. Mẫu trắng là *dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT)*.

Tính hàm lượng nikethamid, $C_{10}H_{14}N_2O$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 282 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 263 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

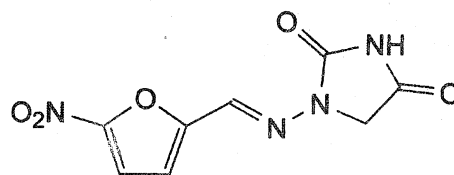
Kích thích cơ tim và trung khu hô hấp.

Hàm lượng thường dùng

Dung dịch 25 %.

NITROFURANTOIN

Nitrofurantoinum



$C_8H_6N_4O_5$

P.t.l: 238,2

Nitrofurantoin là 1-[[5-nitro-2-furyl)methylen]-amino]imidazolidin-2,4-dion, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_8H_6N_4O_5$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng hoặc tinh thể màu vàng. Không mùi hoặc gần như không mùi. Rất khó tan trong nước và ethanol 96 %, tan trong dimethylformamid.

Định tính

A. Ghi phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở phần định lượng từ bước sóng 220 nm đến 400 nm. Dung dịch phải có hai cực đại hấp thụ ở 266 nm và 367 nm. Tỷ lệ giữa độ hấp thụ ở bước sóng 367 nm và độ hấp thụ ở bước sóng 266 nm phải từ 1,36 đến 1,42. Tiến hành phép thử trong điều kiện tránh ánh sáng.

B. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 10 ml *dimethylformamid (TT)*. Thêm 0,1 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol (TT)* vào 1 ml dung dịch trên. Màu nâu xuất hiện.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel HF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Methanol - nitromethan* (10 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong một lượng tối thiểu *dimethylformamid* (TT) rồi pha loãng với *aceton* (TT) thành 10 ml.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml với *aceton* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy khô bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 5 phút. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Phun dung dịch *phenylhydrazin hydroclorid* (TT). Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 10 phút. Trong cả hai trường hợp khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm và quan sát trực tiếp sau khi hiện màu, bất cứ vết phụ nào trên sắc đồ của dung dịch thử đều không được đậm màu hơn vết trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Tiến hành tránh ánh sáng. Hòa tan 0,120 g chế phẩm trong 50 ml *dimethylformamid* (TT) rồi pha loãng với nước thành 1000,0 ml. Lấy 5,0 ml dung dịch trên pha loãng thành 100,0 ml bằng dung dịch chứa 1,8 % *natri acetat* (TT) và 0,14 % (tt/tt) *acid acetic băng* (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở cực đại hấp thụ 367 nm. Dùng dung dịch chứa *natri acetat* và *acid acetic băng* (TT) ở trên làm mẫu trắng. Tính hàm lượng $C_8H_6N_4O_5$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 765 là giá trị A(1 %, 1 cm) ở bước sóng 367 nm.

Bảo quản

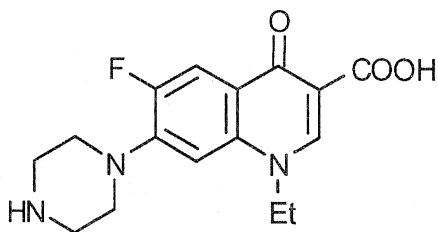
Tránh ánh sáng ở nhiệt độ dưới 25 °C.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

NORFLOXACIN

Norfloxacinum



$C_{16}H_{18}FN_3O_3$

P.t.l: 319,3

Norfloxacin là acid 1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{18}FN_3O_3$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc vàng nhạt, dễ hút ẩm, nhạy cảm với ánh sáng. Rất khó tan trong nước, khó tan trong *aceton* và *ethanol* 96 %.

Định tính

Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của norfloxacin chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo bằng phương pháp tạo viên nén.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong dung dịch *natri hydroxyd* 0,1 N trong *methanol* (TT) đã được lọc trước và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được không được đục hơn hỗn dịch chuẩn đối chiếu số II (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu N₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄* (TT) đã được triển khai trước bằng *methanol* (TT) và để khô ngoài không khí.

Dung môi khai triển: Nước - *diethylamin* - *toluen* - *chloroform* - *methanol* (8 : 14 : 20 : 40 : 40).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 40 mg chế phẩm trong hỗn hợp đồng thể tích *methanol* (TT) và *methylen clorid* (TT), pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích *methanol* (TT) và *methylen clorid* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 50 ml bằng đồng thể tích *methanol* (TT) và *methylen clorid* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4,0 mg tạp chất chuẩn A của norfloxacin (acid 7-cloro-1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic) trong đồng thể tích *methanol* (TT) và *methylen clorid* (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được đến 2 ml bằng dung dịch thử (2).

Cách tiến hành: Chấm lên bản mỏng 5 µl các dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được ít nhất 18 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm và 365 nm. Không được có vết nào, trừ vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %) và không được có quá 3 vết phụ như vậy trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1). Phép thử chỉ có giá trị khi tỷ lệ giá trị R_f của tạp chất A và giá trị R_f của norfloxacin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) ít nhất phải bằng 1,2.

Kim loại nặng

Không được quá 15 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 4. Dùng 3 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; trong chân không; 2 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2)

Dùng 1,0 g chế phẩm, chén platin.

Định lượng

Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6).

Cân chính xác khoảng 0,240 g chế phẩm, hòa tan trong 80 ml *acid acetic khan (TT)*, chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 M (CD)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 M (CD)* tương đương với 31,93 mg $C_{16}H_{18}FN_3O_3$.

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Nhãn

Phải quy định rõ thời hạn sử dụng và điều kiện bảo quản.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc nhỏ mắt.

VIÊN NÉN NORFLOXACIN**Tabellae Norfloxacin**

Là viên nén bao phim chứa norfloxacin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng norfloxacin, $C_{16}H_{18}FN_3O_3$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén bao phim phải có bề mặt nhẵn bóng, không nứt cạnh, không dính tay. Khi cắt viên hiện rõ lớp bao.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tránh ánh sáng trong quá trình thử.

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄ đã được triển khai trước với *methanol (TT)* và để khô ngoài không khí.

Dung môi khai triển: Nước - diethylamin - toluen - cloroform - *methanol* (8 : 14 : 20 : 40 : 40).

Dung môi hòa tan: Hỗn hợp có chứa 50 thể tích *dicloromethan (TT)* và 50 thể tích một dung dịch được pha bằng cách thêm 9 ml *acid hydrochloric (TT)* vào 1000 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 0,4 g norfloxacin, thêm 2 ml *nước* và phân tán bằng lắc siêu âm. Thêm 100 ml dung môi hòa tan, trộn đều. Lắc siêu âm đến khi hình thành hỗn dịch đồng nhất, pha loãng thành 200 ml bằng cùng dung môi. Ly tâm 25 ml dung dịch thu được để có dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan bằng cách lắc siêu âm 50 mg norfloxacin chuẩn trong 15 ml dung môi hòa tan và pha loãng thành 25 ml bằng cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 50 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm và 365 nm. Ở cả hai cách phát hiện vết, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic norfloxacin trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 750 ml dung dịch đệm acetat.

Đệm acetat: Thêm 14,3 ml *acid acetic băng (TT)* vào 4 500 ml *nước*, trộn đều, khuấy và thêm từ từ 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 50 %*, sau đó thêm *nước* vừa đủ 5 000 ml. Nếu cần, điều chỉnh tới pH 4 bằng *acid acetic băng (TT)* hoặc bằng *dung dịch natri hydroxyd 50 %*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc bằng môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ norfloxacin khoảng 0,0016 %. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 313 nm, cốc đo dày 1 cm. Dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch norfloxacin chuẩn có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan.

Tính lượng norfloxacin, $C_{16}H_{18}FN_3O_3$, được hòa tan dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{18}FN_3O_3$ trong norfloxacin chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 85 % norfloxacin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tránh ánh sáng trong quá trình thử.

Pha động: Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,1 % (tt/tt) (150 : 850)

Dung dịch thử: Cân 20 viên đã loại bỏ lớp bao, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,1 g norfloxacin vào bình định mức 200 ml, thêm 80 ml pha động, trộn đều và siêu âm ít nhất 5 phút, thêm pha động đến định mức, lắc đều, lọc. Hút chính xác 10 ml dịch lọc thu được vào bình định mức 25 ml, pha loãng bằng pha động đến định mức.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng norfloxacin chuẩn với pha động để thu được dung dịch có nồng độ 0,02 %.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (30 cm × 3,9 mm) chứa pha tĩnh C (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 275 nm.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột với *dung dịch natri dihydrophosphat 0,01 M (TT)* đã chỉnh đến pH 4,0 bằng *acid phosphoric (TT)* với tốc độ 0,5 ml/min trong 8 giờ. Tiếp tục cân bằng cột với pha động khoảng 30 phút trước khi tiến hành sắc ký.

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, thời gian lưu của pic norfloxacin khoảng 5 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic norfloxacin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn nhỏ hơn 2 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic norfloxacin trong 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Tính hàm lượng norfloxacin, $C_{16}H_{18}FN_3O_3$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{18}FN_3O_3$ trong norfloxacin chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm quinolon.

Hàm lượng thường dùng

200 mg, 400 mg.

NƯỚC CÁT

Aqua destillata

Nước cất là nước được điều chế từ nước uống được hoặc nước tinh khiết bằng phương pháp cất.

Nước cất phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Nước tinh khiết".

NƯỚC ĐỂ PHA THUỐC TIÊM

Aqua pro injectione

Nước để pha thuốc tiêm được điều chế từ nước uống được hoặc nước tinh khiết bằng phương pháp cất với thiết bị cất thích hợp và được dùng như là dung môi để pha chế thuốc tiêm theo lô, mẻ.

Trong suốt quá trình sản xuất và bảo quản nước để pha thuốc tiêm phải có những phương pháp thích hợp để kiểm soát tổng lượng vi khuẩn hiếu khí có trong nước, phải đặt ra các giới hạn cảnh báo và giới hạn hành động thích hợp để phát hiện những chiều hướng bất lợi. Trong điều kiện thường, giới hạn hành động là 10 vi khuẩn hiếu khí trong 100 ml nước, được xác định bằng phương pháp màng lọc (Phụ lục 13.6), sử dụng tối thiểu 200 ml chế phẩm và được ủ ấm ở 30 °C đến 35 °C trong 5 ngày. Đối với các quy trình vô khuẩn, cần áp dụng giới hạn cảnh báo nghiêm ngặt hơn.

Tính chất

Chất lỏng trong, không màu, không mùi và không vị.

Yêu cầu chất lượng

Nước để pha thuốc tiêm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Nước tinh khiết".

Nội độc tố vi khuẩn

Không quá 0,25 EU/ml.

Tiến hành thử theo chuyên luận "Phép thử nội độc tố vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).

Bảo quản

Nước để pha thuốc tiêm được bảo quản vô khuẩn và tránh mọi nguồn gây ô nhiễm.

Ghi chú: Nước để pha thuốc tiêm nếu được bảo quản trong điều kiện vô khuẩn có thể dùng trong vòng 24 giờ kể từ khi cất.

NƯỚC OXY GIÀ ĐẬM ĐẶC

Solutio Hydrogenii peroxydi concentrata

Nước oxy già đậm đặc chứa từ 29,0 % đến 31,0 % (kl/kl) H_2O_2 . Một thể tích dung dịch tương ứng với khoảng 110 thể tích khí oxy. Chế phẩm có thể chứa chất bảo quản.

Tính chất

Chất lỏng trong suốt, không màu, ăn da, mùi hơi đặc biệt, có phản ứng acid nhẹ.

Chế phẩm bị phân hủy dưới tác dụng của không khí, ánh sáng và nhiệt độ.

Định tính

A. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 0,2 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 0,25 ml *dung dịch kali permanganat 0,1 N*. Dung dịch mất màu và có khí bay ra.

B. Lắc 0,05 ml chế phẩm với 2 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, 2 ml *ether (TT)* và 0,05 ml *dung*

dịch kali cromat 5 % (TT). Lóp ether có màu xanh lam.

C. Chế phẩm phải đạt yêu cầu về hàm lượng H_2O_2 .

Giới hạn acid

Pha loãng 10 ml chế phẩm với 100 ml nước đun sôi để nguội, thêm 0,25 ml dung dịch đỏ methyl (TT). Lượng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) thêm vào để làm chuyển màu dung dịch không được ít hơn 0,05 ml và không nhiều hơn 0,5 ml.

Chất bảo quản

Lắc 20 ml chế phẩm với 10 ml cloroform (TT) và sau đó lắc tiếp 2 lần, mỗi lần 5 ml cloroform (TT). Gộp dịch chiết cloroform, để bay hơi dung môi ở nhiệt độ phòng. Làm khô cấn thu được trong bình hút ẩm có silica gel, cân. Lượng cấn thu được không quá 10 mg (500 phần triệu).

Cẩn không bay hơi

Lấy 10 ml chế phẩm vào một chén bạch kim đã cân bì, để yên đến khi hết sủi. Để nguội nếu cần. Bốc hơi trên nồi cách thủy và sấy cấn đến khô ở 100 °C đến 105 °C. Cấn thu được không được quá 20 mg (0,2 %).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 1 g chế phẩm, pha loãng với nước vừa đủ 100,0 ml. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được, thêm 20 ml dung dịch acid sulfuric 10 % (TT), chuẩn độ bằng dung dịch kali permanganat 0,1 N (CĐ) đến màu hồng.

1 ml dung dịch kali permanganat 0,1 N (CĐ) tương đương với 1,701 mg H_2O_2 .

Bảo quản

Đựng trong bình đầy bằng nút thủy tinh có khóa mở hoặc nút bằng chất dẻo có lỗ để khí oxy có thể thoát ra được. Để ở chỗ mát, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm không chứa chất bảo quản thì để ở nhiệt độ không quá 15 °C.

NƯỚC OXY GIÀ LOÃNG 10 %

Solutio Hydrogenii peroxydi diluta 10 %

Nước oxy già loãng chứa từ 9,0 g đến 11,5 g H_2O_2 trong 100 ml. Một thể tích dung dịch tương ứng với khoảng 33 thể tích khí oxy. Chế phẩm có thể chứa chất bảo quản thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu sau đây:

Tính chất

Chất lỏng trong, không màu.

Chế phẩm bị phân hủy nhanh dưới tác dụng của các chất oxy hóa hoặc chất khử.

Định tính

A. Lắc 2 ml chế phẩm với 0,2 ml dung dịch acid sulfuric 10 % (TT) và 0,25 ml dung dịch kali permanganat 0,1 N.

Sau vài giây dung dịch mất màu hoặc có màu hồng rất nhạt và khí bay ra.

B. Lắc 0,5 ml chế phẩm với 2 ml dung dịch acid sulfuric 10 % (TT), 2 ml ether (TT) và 0,05 ml dung dịch kali cromat 5 % (TT). Lóp ether có màu xanh lam.

C. Chế phẩm phải đạt yêu cầu về hàm lượng H_2O_2 .

Giới hạn acid

Lấy 6 ml chế phẩm pha loãng với nước vừa đủ 20 ml. Pha loãng 10 ml dung dịch này với 20 ml nước mới đun sôi để nguội, thêm 0,25 ml dung dịch đỏ methyl (TT). Lượng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) thêm vào để làm chuyển màu dung dịch không được ít hơn 0,05 ml và không nhiều hơn 1,0 ml.

Chất bảo quản

Lấy 20 ml chế phẩm, chiết bằng hỗn hợp cloroform - ether (3 : 2) ba lần với 25 ml, 20 ml và 10 ml. Bay hơi dung môi ở nhiệt độ phòng trong một cốc thủy tinh đã cân bì. Làm khô cấn trong bình hút ẩm có silica gel trong 2 giờ. Lượng cấn không được quá 10 mg.

Cẩn không bay hơi

Không được quá 0,2 %.

Làm bay hơi 10 ml chế phẩm trong một chén bạch kim (đã cân bì) trên cách thủy và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 1 giờ.

Định lượng

Lấy 5,0 ml chế phẩm pha loãng với nước vừa đủ 20 ml. Lấy 2,0 ml dung dịch này cho vào bình nón đã chứa sẵn 20 ml nước, thêm 20 ml dung dịch acid sulfuric 10 % (TT) và chuẩn độ bằng dung dịch kali permanganat 0,1 N (CĐ).

1 ml dung dịch kali permanganat 0,1 N (CĐ) tương đương với 1,701 mg H_2O_2 .

Bảo quản

Đựng trong chai, lọ nút kín, để ở chỗ mát, tránh ánh sáng.

Nếu chế phẩm không chứa chất bảo quản thì để ở nhiệt độ không quá 15 °C.

NƯỚC OXY GIÀ LOÃNG 3 %

Solutio Hydrogenii peroxydi diluta 3 %

Nước oxy già loãng chứa từ 2,5 g đến 3,5 g H_2O_2 trong 100 ml. Một thể tích dung dịch tương ứng với khoảng 10 thể tích khí oxy. Chế phẩm có thể chứa chất bảo quản thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu sau đây:

Tính chất

Chất lỏng trong, không màu.

Chế phẩm bị phân hủy nhanh dưới tác dụng của các chất oxy hóa hoặc chất khử.

Định tính

A. Lắc 2 ml chế phẩm với 0,2 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 0,25 ml *dung dịch kali permanganat 0,1 N*. Sau vài giây dung dịch mất màu hoặc có màu hồng rất nhạt và khí bay ra.

B. Lắc 0,5 ml chế phẩm với 2 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, 2 ml *ether (TT)* và 0,5 ml *dung dịch kali cromat 5 % (TT)*. Lớp ether có màu xanh đậm.

C. Chế phẩm phải đạt yêu cầu về hàm lượng H_2O_2 .

Giới hạn acid

Pha loãng 10 ml chế phẩm với 20 ml *nước* mới đun sôi để nguội, thêm 0,25 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* thêm vào để làm chuyển màu dung dịch không được ít hơn 0,05 ml và không nhiều hơn 1,0 ml.

Chất bảo quản

Lấy 50 ml chế phẩm, chiết bằng hỗn hợp *cloroform - ether* (3 : 2) ba lần với 25 ml, 10 ml và 10 ml. Bay hơi dung môi ở nhiệt độ phòng trong một cốc thủy tinh đã cân bì. Làm khô cặn trong bình hút ẩm có silica gel trong 2 giờ. Lượng cặn không được quá 25 mg.

Cẩn không bay hơi

Không được quá 0,2 %.

Làm bay hơi 10 ml chế phẩm trong một chén bạch kim (đã cân bì) trên cách thủy và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 1 giờ.

Định lượng

Lấy 2,0 ml chế phẩm cho vào bình nón đã chứa sẵn 20 ml *nước*, thêm 20 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch kali permanganat 0,1 N (CĐ)*.

1 ml *dung dịch kali permanganat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 1,701 mg H_2O_2 .

Bảo quản

Đựng trong chai, lọ nút kín, để ở chỗ mát, tránh ánh sáng.

Nếu chế phẩm không chứa chất bảo quản thì để ở nhiệt độ không quá 15 °C.

NƯỚC TINH KHIẾT***Aqua purificata***

H_2O

P.t.l: 18,0

Nước tinh khiết là nước được làm tinh khiết từ nước uống được bằng phương pháp cất, trao đổi ion hoặc bằng các phương pháp thích hợp khác.

Nếu không có qui định gì khác, nước tinh khiết được dùng để pha chế các chế phẩm không yêu cầu vô khuẩn và không có chất gây sốt.

Tính chất

Chất lỏng trong, không màu, không mùi, không vị.

Độ dẫn điện

Không quá 4,3 $\mu S/cm$ ở 20 °C (Phụ lục 6.10).

Giới hạn acid kiềm

Thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* vào 10 ml chế phẩm mới đun sôi để nguội. Dung dịch không được có màu đỏ.

Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 10 ml chế phẩm. Dung dịch không được có màu xanh lam.

Amoni

Không được quá 0,2 phần triệu.

Lấy 20 ml chế phẩm, thêm 1 ml *thuốc thử Nessler (TT)*, sau 5 phút kiểm tra bằng cách nhìn theo chiều dọc ống nghiệm. Dung dịch không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được tiến hành đồng thời bằng cách thêm 1 ml *thuốc thử Nessler (TT)* vào hỗn hợp gồm 4 ml *dung dịch amoni mẫu 1 phần triệu NH_4 (TT)* và 16 ml *nước không có amoni (TT)*.

Clorid

Lấy 10 ml chế phẩm, thêm 1 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và 0,2 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*. Dung dịch không được thay đổi trong ít nhất 15 phút.

Nitrat

Không được quá 0,2 phần triệu.

Lấy 5 ml chế phẩm vào một ống nghiệm, ngâm sâu trong nước đá, thêm 0,4 ml *dung dịch kali clorid 10 % (TT)*, 0,1 ml *dung dịch diphenylamin (TT)* và 5 ml *acid sulfuric đậm đặc không có nito (TT)* (vừa nhỏ từng giọt vừa lắc), để trong cách thủy ở 50 °C trong 15 phút. Dung dịch thu được không được có màu xanh đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng thay chế phẩm bằng hỗn hợp gồm 4,5 ml *nước không có nitrat (TT)* và 0,5 ml *dung dịch nitrat mẫu 2 phần triệu NO_3 (TT)*.

Sulfat

Lấy 10 ml chế phẩm, thêm 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,1 ml *dung dịch bari clorid 6,1 %*. Dung dịch không được thay đổi ít nhất trong một giờ.

Calci và magnesi

Lấy 100 ml chế phẩm, thêm 2 ml *đệm amoniac pH 10,0*, 50 mg *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)* và 0,5 ml *dung dịch natri edetat 0,01 M*, màu xanh được tạo thành.

Chất khử

Lấy 100 ml chế phẩm thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 0,1 ml *dung dịch kali permanganat 0,02 M*, đun sôi trong 5 phút, dung dịch vẫn còn màu hồng nhạt.

Kim loại nặng

Không được quá 0,1 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 150 ml chế phẩm cho vào cốc thủy tinh, đem bốc hơi trên cách thủy tới khi còn 15 ml. Lấy 12 ml dung dịch này để tiến hành thử kim loại nặng theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu so sánh.

Cẩn sau khi bay hơi

Không được quá 0,001 %.

Bay hơi 100 ml chế phẩm tới khô trên cách thủy và sấy trong tủ sấy đến khối lượng không đổi ở 100 °C đến 105 °C. Khối lượng còn lại không được quá 1 mg.

Nhôm

Nếu mục đích sử dụng là để sản xuất các dung dịch thẩm tách thì phải tiến hành phép thử nhôm như sau:

Lấy 400 ml chế phẩm, thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0* và 100 ml *nước cất (TT)*. Dung dịch phải đạt yêu cầu thử giới hạn nhôm (10 µg/l) (Phụ lục 9.4.9). Dùng dung dịch đối chiếu là một hỗn hợp gồm 2 ml *dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu Al (TT)*, 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0* và 98 ml *nước cất (TT)*. Chuẩn bị mẫu trắng gồm hỗn hợp 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0* và 100 ml *nước cất (TT)*.

Độ nhiễm khuẩn

Tổng số lượng vi khuẩn hiếu khí sống lại được không được lớn hơn 10^2 vi khuẩn/ml, xác định bằng phương pháp màng lọc, dùng môi trường thạch casein đậu tương (Phụ lục 13.6).

Nội độc tố vi khuẩn

Nếu để sản xuất dung dịch thẩm tách, mà không có các phương pháp thích hợp loại bỏ nội độc tố vi khuẩn phải tiến hành phép thử nội độc tố vi khuẩn.

Không được nhiều hơn 0,25 EU/ml (Phụ lục 13.2).

Bảo quản và ghi nhãn

Đựng trong bình kín. Bình đựng không được làm thay đổi tính chất của nước.

Dán nhãn thích hợp với nước để điều chế dung dịch thẩm tách.

NƯỚC VÔ KHUẨN ĐỂ TIÊM

Aqua sterilis pro injectione

Nước vô khuẩn để tiêm là nước để pha thuốc tiêm được đựng trong các ống hoặc chai, lọ thích hợp, đóng kín và được tiệt khuẩn bằng nhiệt trong điều kiện đảm bảo chế phẩm không có nội độc tố vi khuẩn. Các đồ đựng dùng chứa nước vô khuẩn để tiêm thường bằng thủy tinh, hoặc nguyên liệu thích hợp khác đạt các yêu cầu qui định trong Dược điển Việt Nam. Nước vô khuẩn để tiêm dùng để hòa tan các thuốc tiêm bột hoặc pha loãng các chế phẩm thuốc tiêm trước khi sử dụng.

Mỗi đồ đựng phải chứa đủ lượng nước theo qui định cho phép khi lấy ra.

Nước vô khuẩn để tiêm phải đáp ứng các yêu cầu về thuốc tiêm trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19).

Tính chất

Chất lỏng, trong suốt, không màu.

Yêu cầu chất lượng

Phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận của “Nước để pha thuốc tiêm” và có thay đổi trong một số phép thử sau:

Giới hạn acid kiềm

Lấy 20 ml chế phẩm, thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)* làm chỉ thị. Nếu dung dịch có màu vàng phải chuyển thành màu đỏ khi thêm 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)*. Nếu dung dịch có màu đỏ phải chuyển thành màu vàng khi thêm 0,15 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)*.

Chất khử

Đun sôi 100 ml chế phẩm với 10 ml *acid sulfuric loãng (TT)*, thêm 0,2 ml *dung dịch kali permanganat 0,02 M (CĐ)* và đun sôi trong 5 phút, dung dịch vẫn còn màu hồng nhạt.

Clorid

Đối với loại có thể tích nhỏ hơn hoặc bằng 100 ml:

Không được quá 0,5 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 15 ml chế phẩm để thử. Mẫu so sánh là hỗn hợp gồm 1,5 ml *dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl (TT)* và 13,5 ml *nước*. Quan sát dung dịch theo trục thẳng đứng từ trên xuống, dọc theo ống nghiệm.

Đối với loại có thể tích lớn hơn 100 ml:

Lấy 10 ml chế phẩm, thêm 1 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 0,2 ml *dung dịch bạc nitrat 1,7 % (TT)*. Dung dịch không được thay đổi về độ trong và màu sắc trong ít nhất 15 phút.

Cẩn sau khi bay hơi

Bay hơi 100 ml chế phẩm tới khô trên cách thủy và sấy trong tủ sấy đến khối lượng không đổi ở 100 °C đến 105 °C.

Đối với loại có thể tích nhỏ hơn hoặc bằng 10 ml, yêu cầu khối lượng cần còn lại không được quá 4 mg (0,004 %);

Đối với loại có thể tích lớn hơn 10 ml, yêu cầu khối lượng cần còn lại không được lớn hơn 3 mg (0,003 %).

Thử vô khuẩn

Phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,25 EU/ml.

Tiến hành thử theo chuyên luận “Phép thử nội độc tố vi khuẩn” (Phụ lục 13.2).

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh mọi nguồn lây nhiễm.

NYSTATIN***Nystatinum***

Nystatin là một chất chống nấm, được sản xuất bằng cách nuôi cấy một số giống của *Streptomyces noursei*, chứa chủ yếu là các tetraen, thành phần chính là nystatin A₁. Hoạt lực của nó không được dưới 4400 đơn vị trong 1 mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu vàng hoặc nâu nhạt, dễ hút ẩm.

Rất khó tan trong nước, dễ tan trong dimethylformamid, khó tan trong methanol, thực tế không tan trong clorofom, trong ethanol 96 % và trong ether.

Định tính

A. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở phép thử “Độ hấp thụ ánh sáng”, có 4 cực đại hấp thụ ở 230; 291; 305 và 319 nm và một vai ở 280 nm. Tỷ lệ độ hấp thụ giữa các cực đại 291 nm và 319 nm so với độ hấp thụ cực đại ở 305 nm lần lượt từ 0,61 đến 0,73 và từ 0,83 đến 0,96. Tỷ lệ giữa độ hấp thụ cực đại ở 230 nm so với độ hấp thụ ở 280 nm từ 0,83 đến 1,25.

B. Thêm 0,1 ml *acid hydrochloric* (TT) vào khoảng 2 mg chế phẩm. Xuất hiện màu nâu.

C. Thêm 0,1 ml *acid sulfuric* (TT) vào khoảng 2 mg chế phẩm. Xuất hiện màu nâu, và chuyển thành tím khi để lâu.

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong một hỗn hợp gồm 5,0 ml *acid acetic băng* (TT) và 50 ml *methanol* (TT), thêm *methanol* (TT) vừa đủ 100,0 ml. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được pha loãng thành 100,0 ml với *methanol* (TT). Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này ở cực đại hấp thụ 305 nm không được nhỏ hơn 0,60, đo trong vòng 30 phút sau khi pha.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; phosphor pentoxyd; 60 °C; áp suất không quá 0,1 kPa; 3 h).

Tro sulfat

Không được quá 3,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Độc tính bất thường

Nếu chế phẩm dùng để uống thì phải đạt phép thử này (Phụ lục 13.5). Tiêm dưới da hỗn dịch chứa không dưới 600 đơn vị trong 0,5 ml *dung dịch acacia 0,5 %* cho một con chuột.

Định lượng

Chú ý tránh ánh sáng trong quá trình định lượng.

Hòa tan riêng rẽ 75 mg, cân chính xác, chế phẩm và nystatin chuẩn trong *dimethylformamid* (TT) vừa đủ để được 50,0 ml. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 200,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 6,0*. Tiến hành “Xác định hoạt lực kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật” (Phụ lục 13.9).

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc

Thuốc chống nấm.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc đặt âm đạo, kem, mỡ dùng ngoài.

VIÊN ĐẶT NYSTATIN***Suppositoria Nystatini***

Là viên nén đặt âm đạo chứa nystatin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc đặt” (Phụ lục 1.10) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng nystatin, C₄₇H₇₅NO₁₇, từ 95,0 % đến 125,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu đồng nhất.

Định tính

Lấy một lượng bột chế phẩm tương ứng với 300 000 đvqt, thêm hỗn hợp gồm 5 ml *acid acetic băng* (TT) và 50 ml *methanol* (TT), lắc, thêm *methanol* (TT) vừa đủ 100 ml, lọc. Pha loãng 1 ml dịch lọc thành 100 ml với *methanol* (TT). Đo phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 250 nm đến 350 nm. Mẫu trắng là dung dịch được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng không có chế phẩm. Phổ hấp thụ thu được phải có 3 cực đại ở các bước sóng 291 nm, 305 nm và 319 nm. Tỷ lệ độ hấp thụ ở các bước sóng cực đại 291 nm và 319 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 305 nm lần lượt phải nằm trong khoảng từ 0,61 đến 0,73 và từ 0,83 đến 0,96.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Định lượng

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Chiết một lượng bột viên tương ứng với khoảng 200 000 đvqt bằng 50,0 ml *dimethylformamid* (TT) trong 1 giờ. Ly tâm. Pha loãng 10,0 ml lớp chất lỏng ở trên thành 200,0 ml bằng dung dịch có chứa

9,56 % kali dihydrophosphat và 11,5 % (tt/tt) dung dịch kali hydroxyd 1 M (TT). Tiến hành phép định lượng theo chuyên luận “Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật” (Phụ lục 13.9).

Giới hạn tin cậy của sai số trong phép định lượng không nhỏ hơn 95 % và không lớn hơn 105 % của hoạt lực ước tính.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C

Loại thuốc

Thuốc chống nấm.

Hàm lượng thường dùng

100 000 đơn vị.

THUỐC MỠ NYSTATIN***Unguentum Nystatini***

Là thuốc mỡ dùng trên da có chứa nystatin phân tán mịn trong các chất nhũ hóa thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc” (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng nystatin, $C_{47}H_{75}NO_{17}$, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Thuốc mỡ phải mịn, đồng nhất, không bị biến màu, không có mùi lạ.

Định tính

Phân tán một lượng chế phẩm tương ứng với 25 000 đvqt trong 10 ml *cloroform* (TT), thêm 40 ml *methanol* (TT), lắc kỹ và lọc. Pha loãng 1 ml dịch lọc thu được thành 25 ml với *methanol* (TT). Đo phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 250 nm đến 350 nm. Mẫu trắng là dung dịch được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng không có chế phẩm. Phổ hấp thụ thu được phải có 3 cực đại ở các bước sóng 291 nm, 305 nm và 319 nm. Tỷ lệ độ hấp thụ ở các bước sóng cực đại 291 nm và 319 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 305 nm lần lượt phải nằm trong khoảng từ 0,61 đến 0,73 và từ 0,83 đến 0,96.

Định lượng

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Phân tán một lượng chế phẩm tương ứng với 400 000 đvqt trong 20 ml *ether* (TT) trong một bình nón có nút mài, thêm 70,0 ml *dimethylformamid* (TT) và lắc trong 15 phút. Thêm 10 ml *nước*. Lắc mạnh trong 2 phút và lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng dung dịch có chứa 9,56 % kali dihydrophosphat và

11,5 % (tt/tt) dung dịch kali hydroxyd 1 M (TT). Tiến hành phép định lượng theo chuyên luận “Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật” (Phụ lục 13.9).

Giới hạn tin cậy của sai số trong phép định lượng không nhỏ hơn 95 % và không lớn hơn 105 % của hoạt lực ước tính.

Bảo quản

Trong lọ kín, ở nhiệt độ từ 20 °C đến 25 °C.

Loại thuốc

Thuốc chống nấm.

Hàm lượng thường dùng

100 000 đvqt/g.

VIÊN NÉN NYSTATIN***Tabellae Nystatini***

Là viên nén bao đường có chứa nystatin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” mục “Viên bao” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng nystatin, $C_{47}H_{75}NO_{17}$, từ 95,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao phải nhẵn, không nứt cạnh, không dính tay, đồng đều về màu sắc.

Định tính

Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 300 000 đvqt hòa trong hỗn hợp gồm 5 ml *acid acetic băng* (TT) và 50 ml *methanol* (TT), lắc kỹ, thêm *methanol* (TT) vừa đủ 100 ml, trộn đều và lọc. Pha loãng 1 ml dịch lọc thành 100 ml với *methanol* (TT). Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 250 nm đến 350 nm. Mẫu trắng là dung dịch được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng không có chế phẩm. Phổ hấp thụ thu được phải có 3 cực đại ở các bước sóng 291 nm, 305 nm và 319 nm. Tỷ lệ độ hấp thụ ở các bước sóng cực đại 291 nm và 319 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 305 nm lần lượt phải nằm trong khoảng từ 0,61 đến 0,73 và từ 0,83 đến 0,96.

Độ rã (Phụ lục 11.6)

Không được quá 30 phút.

Môi trường: *Dung dịch chứa 0,6 % (tt/tt) acid hydrochloric* (TT).

Nếu viên không rã, rửa viên bằng cách nhúng nhanh vào nước và cho vào môi trường là *dung dịch đệm pH 6,8* (TT), thử thêm 30 phút nữa.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, *phosphor pentoxyd*, 60 °C, áp suất không quá 0,7 kPa, 3 h).

Định lượng

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Cân 20 viên đã được loại bỏ lớp vỏ bao, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 200.000 đvqt chiết với 50,0 ml *dimethylformamid* (TT) trong 1 giờ. Ly tâm. Pha loãng 10,0 ml lớp chất lỏng trong ở trên thành 200,0 ml bằng dung dịch có chứa 9,56 % *kali dihydrophosphat* và 11,5 % (tt/tt) *dung dịch kali hydroxyd 1 M* (TT). Tiến hành phép định lượng theo chuyên luận “Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật” (Phụ lục 13.9).

Giới hạn tin cậy của sai số trong phép định lượng không nhỏ hơn 95 % và không lớn hơn 105 % của hoạt lực ước tính.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C.

Loại thuốc

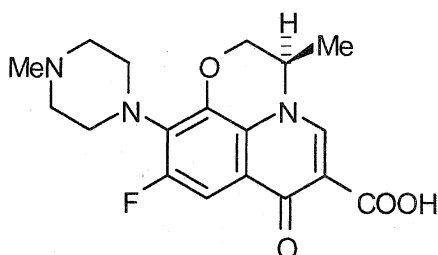
Thuốc chống nấm.

Hàm lượng thường dùng

500 000 đvqt.

OFLOXACIN

Ofloxacinum



và đồng phân đối quang

$C_{18}H_{20}FN_3O_4$

P.t.l: 361,4

Ofloxacin là acid (RS)-9-fluoro-3-methyl-10-(4-methylpiperazin-1-yl)-7-oxo-2,3-dihydro-7H-pyrido[1,2,3-de]-1,4-benzoxazin-6-carboxylic, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng nhạt hoặc vàng sáng, ít tan trong nước và methanol, tan trong acid acetic băng, ít tan đến tan trong dicloromethan.

Định tính

Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ofloxacin chuẩn.

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 440 nm không được lớn hơn 0,25.

Góc quay cực

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - dicloromethan* (1 : 4) và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Góc quay cực của dung dịch thu được từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 4,0 g *amoni acetat* (TT) và 7,0 g *natri perclorat* (TT) trong 1300 ml *nước*, chỉnh pH dung dịch tới 2,2 bằng *acid phosphoric* (TT). Thêm 240 ml *acetonitril* (TT) và lắc đều.

Pha các dung dịch thử và đối chiếu ngay trước khi dùng.

Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp *acetonitril - nước* (1 : 6).

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu, pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng dung môi pha mẫu. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg ciprofloxacin hydroclorid chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Trộn đều 10,0 ml dung dịch thu được và 5,0 ml dung dịch thử và thêm dung môi pha mẫu thành 50,0 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm) đã được khóa đầu (end-capped).

Nhiệt độ cột: 45 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 294 nm.

Tốc độ dòng: Chỉnh tốc độ dòng sao cho thời gian lưu của ofloxacin vào khoảng 20 phút.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch đối chiếu (2), điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sắc ký sao cho chiều cao của 2 pic chính trên sắc ký đồ bằng ít nhất 50 % thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với ciprofloxacin hydroclorid và ofloxacin ít nhất bằng 1,5. Tiêm lần lượt dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch thử, tiến hành chạy sắc ký trong khoảng thời gian bằng 2,5 lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào

không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %); tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 100 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)* tương đương với 36,14 mg $C_{18}H_{20}FN_3O_4$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm quinolon.

Chế phẩm

Viên nén, nang, thuốc nhỏ mắt.

NANG OFLOXACIN

Capsulae Ofloxacini

Là nang cứng chứa ofloxacin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng ofloxacin, $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng nhẵn bóng, không méo mó, bột thuốc bên trong đồng nhất.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - dung dịch amoniac 0,45 M (150 : 75 : 15).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 3 mg ofloxacin, hòa tan trong 10 ml hỗn hợp *cloroform - methanol (1 : 1)*, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ofloxacin chuẩn có nồng độ 0,3 mg/ml trong hỗn hợp *cloroform - methanol (1 : 1)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

B. Trong phần định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ofloxacin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường: 900 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng một lượng dịch lọc thu được với *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ ofloxacin khoảng 5 μ g/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 293 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)*. So sánh với dung dịch ofloxacin chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng dung môi. Tính hàm lượng ofloxacin, $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, hòa tan trong mỗi nang dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ của ofloxacin chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 80% lượng ofloxacin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp *dung dịch natri lauryl sulfat 0,24 % - acetonitril - acid acetic băng (580 : 400 : 20)*.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng ofloxacin chuẩn trong *dung dịch acid hydrochloric 0,05 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,06 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang và nghiền mịn. Cân chính xác một lượng bột tương ứng với khoảng 30 mg ofloxacin vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,05 M (TT)* và lắc siêu âm 10 phút. Thêm *dung dịch acid hydrochloric 0,05 M (TT)* đến định mức, lắc đều. Lọc qua giấy lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 10,0 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml và pha loãng bằng *dung dịch acid hydrochloric 0,05 M (TT)* đến định mức, lắc đều.

Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng ofloxacin chuẩn và propylparaben trong *acetonitril (TT)* để thu

được dung dịch có nồng độ 0,1 mg ofloxacin và 2,4 mg propylparaben trong 1 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: Duy trì ở 35 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 294 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải: Độ phân giải giữa hai pic ofloxacin và propylparaben không được nhỏ hơn 2,0. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn: Hệ số đối xứng pic không được lớn hơn 3,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ofloxacin không được lớn hơn 2,0 %. Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng ofloxacin từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ trong ofloxacin chuẩn.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hoặc trong chai lọ nút kín.

Đề nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

100 mg; 200 mg.

THUỐC NHỎ MẮT OFLOXACIN

Collyrium Ofloxacini

Thuốc nhỏ mắt ofloxacin là dung dịch vô khuẩn của ofloxacin trong nước.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nhỏ mắt” (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng ofloxacin, $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong suốt, không màu.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - dung dịch amoniac 0,45 M (150 : 75 : 15).

Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chế phẩm bằng hỗn hợp cloroform - methanol (1 : 1), để thu được dung dịch có nồng độ ofloxacin khoảng 0,3 mg/ml.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ofloxacin chuẩn có nồng độ 0,3 mg/ml trong hỗn hợp cloroform - methanol (1 : 1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

B. Trong phần định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ofloxacin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH

Từ 6,0 đến 6,8 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn, dung dịch phân giải, điều kiện sắc ký và cách tiến hành thực hiện như mô tả trong phần “Định lượng” của chuyên luận “Nang ofloxacin”.

Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chính xác chế phẩm bằng dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT) để thu được dung dịch có nồng độ ofloxacin khoảng 0,06 mg/ml.

Bảo quản

Đề nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

Nồng độ thường dùng

0,3 %.

VIÊN NÉN OFLOXACIN

Tabellae Ofloxacini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa ofloxacin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng ofloxacin, $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

Tiến hành các phép thử như mô tả ở mục Định tính trong chuyên luận “Nang ofloxacin”. Sử dụng bột viên thay cho bột thuốc trong nang.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu và tiến hành thử như mô tả trong chuyên luận “Nang ofloxacin”, nhưng sử dụng thiết bị giỏ quay.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn, dung dịch thử, dung dịch phân giải, điều kiện sắc ký, cách tiến hành: Thực hiện như mô tả ở mục Định lượng trong chuyên luận “Nang ofloxacin”, thay bột thuốc trong nang bằng bột viên sau khi cân 20 viên (loại bỏ vỏ bao, nếu có) để xác định khối lượng trung bình và nghiền mịn.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hoặc trong chai lọ nút kín.

Đề nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

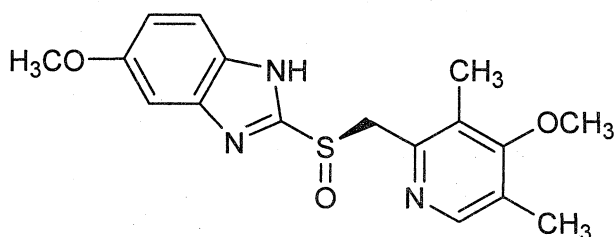
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

100 mg; 200 mg.

OMEPRAZOL

Omeprazolum



và đồng phân đối quang

$C_{17}H_{19}N_3O_3S$

P.t.l: 345,4

Omeprazol là 5-methoxy-2-[(RS)-[(4-methoxy-3,5-dimethylpyridin-2-yl)methyl]-sulphinyl]-1H-benzimidazol, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng.

Rất khó tan trong nước, tan trong dicloromethan, hơi tan trong ethanol 96 % và methanol. Tan trong dung dịch kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B.

Nhóm II: A, C.

A. Hòa tan 2,0 mg chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được từ bước sóng 230 nm đến 350 nm. Dung dịch cho hai cực đại hấp thụ tại bước sóng 276 nm và 305 nm. Tỷ lệ giữa độ hấp thụ ở cực đại hấp thụ 305 nm và 276 nm phải từ 1,6 đến 1,8.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của omeprazol chuẩn.

C. Trong phép thử “Giới hạn tạp chất ufiprazol”, vết chính trên sắc đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự

về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1). Đặt bản mỏng vào bình bão hòa hơi *acid acetic (TT)*. Các vết này nhanh chóng chuyển sang màu nâu.

Độ trong của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.1).

Độ hấp thụ

Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch S đo ở bước sóng 440 nm không được quá 0,10 (giới hạn này tương đương với 0,035 % tạp F hoặc G).

Giới hạn tạp chất ufiprazol

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: 2-Propanol - methylen clorid bão hòa amoniac - methylen clorid (20 : 40 : 40). Chuẩn bị *methylen clorid* bão hòa amoniac bằng cách lắc 100 ml *methylen clorid (TT)* với 30 ml amoniac đậm đặc (TT) trong bình gan. Để yên cho phân lớp. Sử dụng lớp dưới.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 2,0 ml dung dịch hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg omeprazol chuẩn trong 2,0 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 1). Lấy 1 ml dung dịch này pha loãng thành 100 ml với cùng hỗn hợp dung môi trên.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Đề khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất cứ vết phụ nào trên sắc đồ của dung dịch thử (1) với giá trị R_f lớn hơn giá trị tương ứng của omeprazol không được đậm màu hơn vết trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch dinatri hydrophosphat 0,14 % (đã được điều chỉnh pH về 7,6 bằng *acid phosphoric*) (27 : 73).

Dung dịch thử: Hòa tan 3,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 1,0 mg omeprazol chuẩn và 1,0 mg tạp omeprazol sulphon trong pha động và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4 mm) nhồi octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 40 µl.

Cách tiến hành: Khi các sắc đồ được ghi trong các điều kiện trên, thời gian lưu của omeprazol là khoảng 9 phút và thời gian lưu tương đối của omeprazol sulphon là 0,8. Tiêm riêng biệt mỗi dung dịch trên và ghi các sắc đồ trong khoảng thời gian bằng ba lần thời gian lưu của omeprazol. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu bằng ít nhất 15 % chiều cao của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị, khi trên sắc đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa các pic tương ứng với tạp chất omeprazol sulphon và omeprazol lớn hơn 3. Nếu cần thiết, điều chỉnh pH của pha động hoặc nồng độ *acetonitril* (TT). Tăng pH sẽ làm tăng độ phân giải. Diện tích của bất cứ pic nào, ngoài pic chính, trên sắc đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích của pic trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).

Dung môi tồn dư

Hàm lượng cloroform không được quá 50 phần triệu; methylen clorid không được quá 100 phần triệu; trichloroethylen không được quá 100 phần triệu.

Xác định bằng sắc ký khí head-space, dùng phương pháp thêm chuẩn (Phụ lục 5.2).

Điều kiện sắc ký:

Cột sắc ký: Cột silica dài 30 m, đường kính trong 0,32 mm được phủ một lớp phim *poly[(cyanopropyl)-(methyl)][(phenyl)(methyl)]siloxan* dày 1,8 mm.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Khí mang: Nitrogen dùng cho sắc ký.

Đặt 0,50 g chế phẩm trong lọ đựng mẫu 10 ml. Thêm 4,0 ml *dimethylformamid* (TT) và đậy kín lọ. Đặt lọ ở 80 °C trong 1 giờ.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; chân không hoàn toàn; 60 °C, 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 1,100 g chế phẩm trong hỗn hợp 10 ml nước và 40 ml *ethanol* 96 % (TT). Định lượng bằng dung dịch *natri hydroxyd* 0,5 M (CĐ). Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch *natri hydroxyd* 0,5 M (CĐ) tương đương với 0,1727 g $C_{17}H_{19}N_3O_3S$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C.

NANG OMEPRAZOL**Capsulae Omeprazoli**

Là nang cứng chứa omeprazol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nang” (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng omeprazol, $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Methylen clorid bão hòa amoniac - methylen clorid - isopropanol* (2 : 2 : 1).

Dung môi pha loãng: Hỗn hợp *methylen clorid - methanol* (1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy thuốc trong ít nhất 5 viên nang, nghiền mịn và trộn đều. Cân một lượng bột thuốc tương ứng với 10 mg omeprazol vào bình đựng thích hợp, thêm 2 ml dung môi pha loãng, siêu âm 5 phút, và để yên dung dịch này 20 phút trước khi chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan một lượng omeprazol chuẩn trong dung môi pha loãng để được dung dịch có nồng độ 5 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai đến khi dung môi đi được 3/4 chiều dài bản mỏng. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

B. Trong phần định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic omeprazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)**Giai đoạn trong môi trường acid**

Môi trường hòa tan: 500 ml dung dịch *acid hydrochloric* 0,1 M (TT).

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 2 h.

Cách tiến hành:

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch đệm phosphat pH 7,6 và điều kiện sắc ký: Thực hiện như mô tả trong phần Giai đoạn trong môi trường đệm.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg omeprazol chuẩn vào bình định mức 250 ml, hòa tan bằng 50 ml *ethanol* (TT), pha loãng bằng *dung dịch natri tetraborat 0,01 M* (TT) đến định mức. Hút chính xác 10 ml dung dịch này cho vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *ethanol* (TT), pha loãng bằng *dung dịch natri tetraborat 0,01 M* (TT) đến định mức, lắc đều.

Dung dịch thử: Sau 2 giờ, lọc dung dịch môi trường qua rây có đường kính lỗ rây không quá 0,2 mm. Lấy các vi hạt và rửa chúng bằng *nước*, dùng khoảng 60 ml *dung dịch natri tetraborat 0,01 M* (TT) để chuyển các vi hạt vào bình định mức 100 ml, siêu âm trong khoảng 20 phút cho đến khi các vi hạt vỡ ra, thêm 20 ml *ethanol* (TT), pha loãng bằng *dung dịch natri tetraborat 0,01 M* (TT) đến định mức, lắc đều. Pha loãng một lượng thích hợp dung dịch này với *dung dịch natri tetraborat 0,01 M* (TT) để được một dung dịch có nồng độ omeprazol khoảng 0,02 mg/ml. Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính lượng omeprazol trong mỗi viên hòa tan trong môi trường acid bằng cách lấy lượng omeprazol ghi trên nhãn trừ đi lượng không bị hòa tan tính được từ diện tích pic omeprazol trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và từ hàm lượng của $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ trong omeprazol chuẩn.

Yêu cầu:

Mức độ L1: Chế phẩm đạt yêu cầu nếu không có nang nào có lượng omeprazol hòa tan vượt quá 15 % lượng ghi trên nhãn.

Mức độ L2: Nếu không đạt yêu cầu của mức độ 1, tiếp tục thử 6 nang nữa. Giá trị trung bình của 12 nang không được quá 20 % và không có nang nào có lượng omeprazol hòa tan lớn hơn 35 % lượng ghi trên nhãn.

Mức độ L3: Thử tiếp 12 viên nữa nếu không đạt yêu cầu của mức độ L1 và L2. Giá trị trung bình của 24 nang không vượt quá 20 % và không được có nhiều hơn 2 nang có lượng omeprazol hòa tan lớn hơn 35 % và không có nang nào hòa tan lớn hơn 45 % lượng ghi trên nhãn.

Giai đoạn trong môi trường đệm

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch đệm phosphat pH 6,8*.

Thực hiện như trong giai đoạn môi trường acid với những viên nang mới trong cùng một lô. Sau 2 giờ, thêm 400 ml *dung dịch dinatri phosphat 0,235 M pH 10,4* vào mỗi cốc. Điều chỉnh đến $pH\ 6,8 \pm 0,05$ bằng *dung dịch acid hydrochloric 2 M* (TT) hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT).

Pha dung dịch đệm:

Dung dịch dinatri phosphat 0,235 M pH 10,4: Hòa tan 33,36 g *dinatri hydrophosphat khan* (TT) trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến $pH\ 10,4 \pm 0,1$ bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT).

Dung dịch đệm phosphat pH 6,8: Thêm 400 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT) vào 320 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,235 M pH 10,4*, điều chỉnh đến $pH\ 6,8 \pm 0,05$ bằng *dung dịch acid hydrochloric 2 M* (TT) hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT).

Dung dịch đệm phosphat pH 7,6: Hòa tan 0,718 g *natri dihydrophosphat* (TT) và 4,49 g *dinatri hydrophosphat* (TT) trong 1000 ml *nước*. Điều chỉnh đến $pH\ 7,6 \pm 0,1$ (nếu cần) bằng *dung dịch acid hydrochloric 2 M* (TT) hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT). Pha loãng 250 ml dung dịch này thành 1000 ml bằng *nước*.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - *dung dịch đệm phosphat pH 7,6* (34 : 66), có thể điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn (1) (đối với viên nang 10 mg): Hòa tan chính xác một lượng omeprazol chuẩn trong *ethanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 2 mg/ml. Tiếp tục pha loãng bằng *dung dịch đệm phosphat pH 6,8* để được dung dịch có nồng độ 0,01 mg/ml. Thêm ngay 2,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,25 M* vào 10,0 ml dung dịch này, lắc đều.

Dung dịch chuẩn (2) (đối với viên nang 20 mg và 40 mg): Tiến hành như dung dịch chuẩn (1), nhưng dung dịch thu được trước khi thêm 2,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,25 M* phải có nồng độ 0,02 mg/ml.

Dung dịch thử (1) (đối với viên nang 10 mg và 20 mg): Hút 5,0 ml dung dịch sau khi hòa tan vào trong một ống nghiệm có chứa sẵn 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,25 M*. Lắc đều, lọc qua màng lọc 1,2 μm hoặc nhỏ hơn. Tránh ánh sáng.

Dung dịch thử (2) (đối với viên nang 40 mg): Hút 5,0 ml dung dịch sau khi hòa tan cho vào ống nghiệm có chứa sẵn 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,25 M* và 5,0 ml *dung dịch đệm phosphat pH 6,8*. Lắc đều, lọc qua màng lọc 1,2 μm hoặc nhỏ hơn. Tránh ánh sáng.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (12,5 cm $\times$ 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl .

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi hiệu lực của cột được xác định bằng số đĩa lý thuyết không dưới 2 000 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic omeprazol trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm nhắc lại không lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính lượng omeprazol hòa tan từ mỗi nang dựa vào diện tích pic omeprazol trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và từ hàm lượng của $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ trong omeprazol chuẩn.

Yêu cầu:

Đối với viên nang 10 mg và 20 mg: Không được ít hơn 75 % lượng omeprazol, $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Đối với viên nang 40 mg: Không được ít hơn 70 % lượng omeprazol, $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Tạp sắc ký

Dung môi pha loãng, dung dịch A, dung dịch B, dung dịch chuẩn, dung dịch thử, pha động và điều kiện sắc ký: Như mô tả trong mục Định lượng.

Tiêm riêng biệt 10 μ L dung dịch chuẩn và thử, ghi lại sắc ký đồ. Tính phần trăm mỗi tạp chất theo công thức:

$$P(\%) = (10C/FA)(r_i/r_s)$$

Trong đó:

C là nồng độ omeprazol trong dung dịch chuẩn (μ g/ml);

F là hệ số đáp ứng tương đối ($F = 1,6$ đối với những pic có thời gian lưu tương đối khoảng 0,33; $F = 3,1$ đối với những pic có thời gian lưu tương đối khoảng 0,64; $F = 1$ đối với những tạp còn lại);

A là lượng omeprazol (mg) trong lượng mẫu dùng để pha dung dịch thử, tính được từ kết quả định lượng;

r_i là diện tích của mỗi pic tạp trên sắc ký đồ của dung dịch thử;

r_s là diện tích pic omeprazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn;

Yêu cầu: Mỗi tạp chất không được quá 0,5 % và tổng tất cả các tạp chất không được quá 2,0 %.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung môi pha loãng: Hòa tan 7,6 g natri tetraborat (TT) trong 800 ml nước. Thêm 1 g natri edetat (TT), điều chỉnh đến pH $11,0 \pm 0,1$ bằng dung dịch natri hydroxyd 50 %. Chuyển dung dịch này vào bình định mức 2 000 ml, thêm 400 ml ethanol (TT), pha loãng với nước đến định mức.

Dung dịch A: Hòa tan 6 g glycine trong 1500 ml nước, điều chỉnh đến pH 9,0 bằng dung dịch natri hydroxyd 50 % và pha loãng với nước vừa đủ 2 000 ml, lọc.

Dung dịch B: Acetonitril - methanol (85 : 15).

Pha động: Hỗn hợp dung dịch A và dung dịch B theo chương trình dung môi như chỉ dẫn ở phần điều kiện sắc ký (điều chỉnh nếu cần).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan (bằng cách siêu âm) một lượng omeprazol chuẩn trong dung môi pha loãng để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,2 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột tương ứng với khoảng 20 mg omeprazol vào bình định mức 100 ml, thêm

50 ml dung môi pha loãng, siêu âm trong 15 phút, thêm cùng dung môi đến định mức, lắc đều, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm $\times$ 4,6 mm) nhồi pha tĩnh B (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 305 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thời gian và pha động thay đổi như sau:

Thời gian (min)	Dung dịch A (%)	Dung dịch B (%)
0 – 20	88 $\rightarrow$ 40	12 $\rightarrow$ 60
20 – 21	40 $\rightarrow$ 88	60 $\rightarrow$ 12
21 – 25	88	12

Thể tích tiêm: 20 μ L

Cách tiến hành: Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi hiệu lực của cột được xác định bằng dung dịch chuẩn có số đĩa lý thuyết không dưới 20 000, hệ số đối xứng không được lớn hơn 2 hoặc nhỏ hơn 0,8 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic omeprazol trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm nhắc lại không lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng omeprazol, $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, dựa vào diện tích pic omeprazol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của omeprazol chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống loét dạ dày, tá tràng, ức chế bơm proton.

Hàm lượng thường dùng

20 mg.

ORESOL

Sales perorales ad rehydratationem

Thuốc bột uống bù dịch

Chế phẩm là thuốc bột uống có chứa glucose hoặc glucose khan, natri clorid, kali clorid và natri citrat hoặc natri hydrocarbonat. Thuốc được hòa tan vào một thể tích nước theo yêu cầu, dùng để uống nhằm phòng ngừa và điều trị chứng mất nước do tiêu chảy, kể cả điều trị duy trì.

Chế phẩm có thể chứa các chất tạo mùi thích hợp và khi cần thiết có thể chứa một lượng tối thiểu tá dược trơn để thu được sản phẩm mong muốn.

Công thức điều chế: Công thức điều chế 1 gói chế phẩm để pha trong 1 lít nước như sau:

Thành phần	Khối lượng	
	ORS Hydrocarbonat (B)	ORS Citrat (C)
Natri clorid	3,5	3,5
Kali clorid	1,5	1,5
Natri citrat	0	2,9
Natri hydrocarbonat	2,5	0
Glucose khan (hoặc glucose monohydrat)	20,0 22,0	20,0 22,0
Tổng số khối lượng	27,5 g (hoặc 29,5 g)	27,9 g (hoặc 29,9 g)

Glucose monohydrat có thể dùng khi natri hydrocarbonat đóng gói riêng.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng

Hàm lượng kali, K; natri, Na; hydrocarbonat, HCO_3 ; clorid, Cl và citrat, $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ phải từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng glucose khan $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ hoặc glucose monohydrat $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ phải đạt 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột trắng hay hơi ngà, khô rời, không vón cục. Vị mặn hơi ngọt. Khi pha 1 gói thuốc trong 1 lít nước sẽ được dung dịch trong và hầu như không màu.

Định tính

A. Khi đun nóng chảy chế phẩm, ban đầu có màu vàng sau chuyển màu nâu, phồng lên và chảy với mùi đường cháy.

Hòa tan lượng thuốc trong một gói vào 250 ml nước, dung dịch thu được làm các phép thử sau:

B. Phải cho phản ứng B đặc trưng của muối natri (Phụ lục 8.1).

C. Phải cho phản ứng B đặc trưng của muối kali (Phụ lục 8.1).

D. Phải cho phản ứng A đặc trưng của clorid (Phụ lục 8.1).

E. Đối với chế phẩm chứa natri citrat, phải cho phản ứng đặc trưng của citrat (Phụ lục 8.1).

G. Đối với chế phẩm chứa natri hydrocarbonat, phải cho phản ứng đặc trưng của hydrocarbonat (Phụ lục 8.1).

H. Đun sôi 1 ml dung dịch với 5 ml thuốc thử Fehling (TT) sẽ xuất hiện tủa đỏ gạch của đồng (I) oxyd.

pH (chỉ thử với loại chế phẩm có citrat)

Hòa tan 1,4 g chế phẩm trong 50 ml nước, dung dịch thu được phải có pH từ 7,0 đến 8,8 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Định lượng glucose: Cân chính xác khoảng 8 g chế phẩm, hòa tan trong khoảng 60 ml nước, thêm 0,2 ml dung dịch amoniac 10 % (TT), thêm nước vừa đủ 100,0 ml. Trộn đều, để yên 30 phút. Xác định góc quay cực α của dung dịch thu được trong ống dài 2 dm ở 25 °C. Tính lượng glucose khan $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ trong mẫu thử (g) bằng cách nhân giá trị góc quay cực α với 0,9477.

Định lượng citrat: Cân chính xác khoảng 1 g chế phẩm, hòa tan trong 40 ml acid acetic khan (TT) bằng cách làm nóng nhẹ ở 50 °C, để nguội, chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6) bằng dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ) với chỉ thị là dung dịch 1-naphtol benzein 0,2 % trong acid acetic khan (TT). Song song làm mẫu trắng.

1 ml dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 6,303 mg citrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$).

Định lượng clorid: Hút 25,0 ml dung dịch A ở phần định lượng natri, thêm khoảng 20 ml nước. Định lượng bằng dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ) với chỉ thị là dung dịch kali cromat 5 % (TT).

1 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ) tương đương với 3,545 mg clorid (Cl^-).

1 g natri clorid hoặc 1 g kali clorid tương đương với 0,6066 g hoặc 0,4765 g Cl^- .

Định lượng hydrocarbonat: Cân chính xác khoảng 2 g chế phẩm nếu đóng chung, hoặc 0,15 g natri hydrocarbonat nếu để riêng gói. Hòa tan trong 70 ml nước, định lượng bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ) với chỉ thị là dung dịch da cam methyl (TT).

1 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 6,101 mg hydrocarbonat (HCO_3). 1 g natri hydrocarbonat tương đương với 0,7263 g HCO_3 .

Định lượng natri: Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch chuẩn gốc natri 1000 $\mu\text{g/ml}$

Dung dịch kali clorid 4 % : Hòa tan 4 g kali clorid (TT) trong nước trao đổi ion (TT) thành 100 ml.

Chuẩn bị dãy chuẩn natri:

Pha loãng 10,0 ml dung dịch chuẩn gốc natri 1000 $\mu\text{g/ml}$ thành 100 ml bằng nước trao đổi ion (TT) để được dung dịch natri có nồng độ 100 $\mu\text{g/ml}$.

Tiến hành pha dãy chuẩn natri có các nồng độ 2,0 $\mu\text{g/ml}$; 4,0 $\mu\text{g/ml}$; 6,0 $\mu\text{g/ml}$ và 8,0 $\mu\text{g/ml}$ theo bảng sau:

Nồng độ chuẩn natri ($\mu\text{g/ml}$)	Dung dịch chuẩn natri 100 $\mu\text{g/ml}$ (ml)	Dung dịch kali clorid 4% (ml)	Nước trao đổi ion (TT) vừa đủ (ml)
0 (Trắng)	0	10	100
2,0	2,0	10	100
4,0	4,0	10	100
6,0	6,0	10	100
8,0	8,0	10	100

Chuẩn bị dung dịch thử:

Cân chính xác khoảng 10 g chế phẩm vào bình định mức 500 ml, thêm 300 ml *nước trao đổi ion (TT)*, lắc để hòa tan, thêm *nước trao đổi ion (TT)* đến định mức, lắc đều (dung dịch A). Pha loãng dung dịch A từng bước bằng *nước trao đổi ion (TT)* để thu được dung dịch thử natri có nồng độ khoảng 4 µg/ml, thêm dung dịch kali clorid 4 % vào dung dịch cuối với tỷ lệ 1/10.

Tiến hành: Sử dụng máy quang phổ hấp thụ nguyên tử có trang bị đèn cathod rỗng natri, đầu đốt sử dụng ngọn lửa acetylen - không khí nén. Tiến hành đo độ hấp thụ nguyên tử của các dung dịch chuẩn và dung dịch thử tại vạch phổ cực đại của natri 589,0 nm. Từ độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn và dung dịch thử, lập đường chuẩn thực nghiệm biểu diễn sự phụ thuộc của độ hấp thụ vào nồng độ natri và tính toán nồng độ natri trong dung dịch thử dựa vào đường chuẩn.

Định lượng kali: Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch natri clorid 4 %: Hòa tan 4 g *natri clorid (TT)* trong *nước trao đổi ion (TT)* thành 100 ml.

Dung dịch chuẩn gốc kali 1000 µg/ml.

Chuẩn bị dãy chuẩn kali :

Pha loãng 10,0 ml *dung dịch chuẩn gốc kali 1000 µg/ml* thành 100 ml bằng *nước trao đổi ion (TT)* để được dung dịch kali có nồng độ 100 µg/ml.

Tiến hành pha dãy chuẩn kali có các nồng độ 1,0 µg/ml; 2,0 µg/ml; 3,0 µg/ml và 4,0 µg/ml theo bảng sau:

Nồng độ chuẩn kali (µg/ml)	Dung dịch chuẩn kali 100 µg/ml (ml)	Dung dịch natri clorid 4% (ml)	Nước cất vừa đủ (ml)
0 (Trắng)	0	10	100
1,0	1,0	10	100
2,0	2,0	10	100
3,0	3,0	10	100
4,0	4,0	10	100

Chuẩn bị dung dịch thử: Pha loãng dung dịch A trong phân định lượng natri từng bước bằng *nước trao đổi ion (TT)* để thu được dung dịch thử kali có nồng độ khoảng 2 µg/ml, thêm dung dịch natri clorid 4 % vào dung dịch cuối với tỷ lệ 1/10.

Tiến hành:

Sử dụng máy quang phổ hấp thụ nguyên tử có trang bị đèn cathod rỗng kali, đầu đốt sử dụng ngọn lửa acetylen - không khí nén. Tiến hành đo độ hấp thụ nguyên tử của các dung dịch chuẩn và dung dịch thử tại vạch phổ cực đại của kali 776,5 nm. Từ độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn và dung dịch thử lập đường chuẩn thực nghiệm biểu diễn sự phụ thuộc của độ hấp thụ vào nồng độ kali và tính toán nồng độ kali trong dung dịch thử dựa vào đường chuẩn.

Bảo quản

Chế phẩm đóng gói trong bao kín tránh ẩm, tốt nhất là trong bao giấy nhôm. Nên đóng gói thành liều đơn hoặc liều dùng trong một ngày.

Chế phẩm được bảo quản ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

Bù nước và điện giải.

OXYGEN**Oxygenium**

O₂

P.t.l: 32,00

Oxygen phải chứa ít nhất 99,0 % O₂ (tt/tt).

Tính chất

Khí không màu, không mùi.

1 ml oxygen hòa tan trong khoảng 32 ml nước hoặc 7 ml ethanol ở nhiệt độ 20 °C và dưới áp suất 760 mmHg.

1000 ml oxygen ở 0 °C và ở áp suất 760 mmHg nặng khoảng 1,429 g.

Định tính

A. Cho một mảnh gỗ cháy còn than hồng tiếp xúc với chế phẩm, sẽ bốc cháy thành ngọn lửa sáng.

B. Lắc chế phẩm với *dung dịch kiểm pyrogallol (TT)*, chế phẩm sẽ bị hấp thụ và dung dịch chuyển thành màu nâu sẫm.

Trước khi tiến hành các phép thử sau, để bình đựng oxygen ở nhiệt độ từ 18 °C đến 22 °C trong ít nhất 6 giờ.

Giới hạn acid - kiềm

Dung dịch thử: Cho 2,0 lít chế phẩm chạy qua hỗn hợp gồm 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

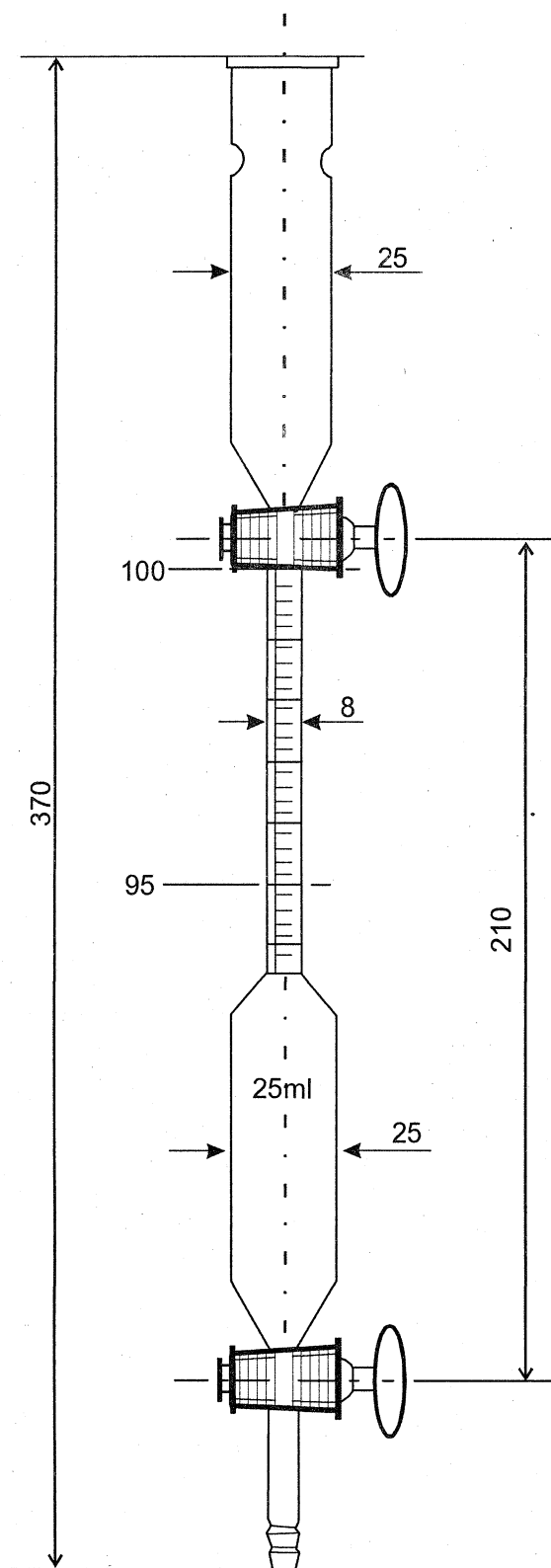
Dung dịch đối chiếu (2): Hỗn hợp 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*.

Thêm vào mỗi dung dịch trên 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl 0,02 % trong ethanol 70 %*. Cường độ màu của dung dịch thử phải đậm hơn dung dịch đối chiếu (1) và nhạt hơn dung dịch đối chiếu (2).

Carbon monoxyd

Không được quá 5 phần triệu (tt/tt).

Tiến hành theo Phụ lục 9.5: “Thử giới hạn carbon monoxyd trong khí y tế”. Dùng 7,5 lít chế phẩm để thử và 7,5 lít *argon* để làm mẫu trắng. Chênh lệch thể tích *dung dịch natri thiosulfat 0,002 M (CĐ)* giữa 2 lần chuẩn độ không được quá 0,4 ml.



Hình 1: Buret khí

Carbon dioxyd

Không được quá 0,03 % (tt/tt).

Cho 1,0 lít chế phẩm chạy qua 50 ml *dung dịch bari hydroxyd 0,25 M*. Nếu dung dịch đục, thì độ đục không được quá độ đục của dung dịch đối chiếu gồm 1 ml *dung dịch natri hydrocarbonat 0,11 % trong nước không có carbon dioxyd* và 50 ml *dung dịch bari hydroxyd 0,25 M*.

Các chất oxy hóa

Cho vào mỗi bình trụ 50 ml *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)* vừa mới pha và 0,2 ml *acid acetic băng (TT)*. Để hai bình trong chỗ tối. Cho 5,0 lít chế phẩm chạy qua một trong hai bình. Dung dịch trong cả hai bình phải không màu.

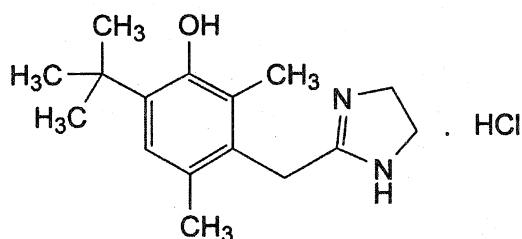
Định lượng

Dùng một buret khí dung tích 25 ml (như Hình 1) gồm một thân chính, phía trên là một tube khắc độ 0,2 % giữa 95 đến 100. Buret có gắn khóa ở hai đầu. Khóa dưới gắn với vòi ống có ngăn dùng để đưa khí vào buret. Khóa trên được gắn với một phễu hình trụ dùng để chứa dung dịch hấp thụ dùng trong định lượng.

Rửa buret với nước và sấy khô. Mở cả hai khóa. Nối vòi ống với bình chứa chế phẩm, điều chỉnh lưu lượng khí vào buret với tốc độ 1 lít/phút. Cho khí chạy qua buret 1 phút. Đóng khóa trên của buret, rồi đóng tiếp khóa dưới. Nhấc buret ra khỏi bình chứa chế phẩm. Vận khóa trên 1/2 vòng để loại áp suất thừa (nếu có) trong buret. Để buret thẳng đứng. Đổ vào phễu hình trụ một dung dịch mới pha gồm 21 ml *dung dịch kali hydroxyd 56 %* và 130 ml *dung dịch natri dithionit 20 %*. Mở từ từ khóa trên. Dung dịch sẽ hấp thụ oxygen và chảy vào buret. Để yên 10 phút, không lắc. Đọc mức chất lỏng trong phần chia vạch của buret. Số đọc được là hàm lượng (%) O₂ trong chế phẩm (tt/tt).

Bảo quản

Oxygen được nén trong bình kim loại phù hợp mà sức chịu đựng phải được kiểm tra định kỳ bởi một cơ quan có thẩm quyền. Các bình oxygen phải được bảo quản ở chỗ mát. Các van và vòi khóa không được bôi dầu mỡ.

OXYMETAZOLIN HYDROCLORID***Oxymetazolini hydrochloridum*** $C_{16}H_{24}N_2O \cdot HCl$

P.t.l: 296,8

Oxymetazolin hydroclorid là 3-[(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)methyl]-6-(1,1-dimethylethyl)-2,4-dimethylphenol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{24}N_2O \cdot HCl$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước và ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của oxymetazolin hydroclorid chuẩn.

B. Tiến hành sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4): Vết chính trên sắc đồ của dung dịch thử (2) ở phần "Tập chất liên quan" phải giống về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1).

C. Hòa tan 2 mg chế phẩm trong 1 ml nước. Thêm 0,2 ml dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT) và 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT). Để yên 10 phút. Thêm 2 ml dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT). Màu tím xuất hiện.

D. Chế phẩm cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.1) và màu không đậm hơn màu mẫu VN₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Thêm 0,1 ml dung dịch đỏ methyl (TT) và 0,2 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ). Dung dịch có màu đỏ. Thể tích dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ) dùng để làm chuyển màu dung dịch sang vàng không được quá 0,4 ml.

Tập chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Diethylamin - cyclohexan - ethanol (6 : 15 : 79).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,40 g chế phẩm trong hỗn hợp ethyl acetat - methanol (1 : 1) và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng hỗn hợp ethyl acetat - methanol (1 : 1)

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40 mg oxymetazolin hydroclorid chuẩn (ĐC) trong hỗn hợp ethyl acetat - methanol (1 : 1) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng hỗn hợp ethyl acetat - methanol (1 : 1).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 40 ml bằng hỗn hợp ethyl acetat - methanol (1 : 1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng dòng không khí nóng trong 5 phút. Để nguội, rồi phun bản mỏng bằng dung dịch kali ferricyanid 0,5 % (TT) trong dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT). Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Bất cứ vết nào trên sắc đồ của dung dịch thử (1), ngoài vết chính, đều không được đậm màu hơn vết trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %) và chỉ được có một vết đậm màu hơn vết trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,25 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml acid acetic khan (TT) và 20 ml anhydrid acetic (TT).

Định lượng bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ).

Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 29,68 mg $C_{16}H_{25}ClN_2O$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc

Chất chủ vận của thụ thể α-adrenalin.

THUỐC NHỎ MŨI OXYMETAZOLIN***Nasalia Oxymetazolini***

Thuốc nhỏ mũi oxymetazolin là dung dịch của oxymetazolin hydroclorid trong nước, có thể có thêm tá dược thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mũi và thuốc xịt mũi dạng lỏng" (Phụ lục 1.15) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng oxymetazolin hydroclorid, $C_{16}H_{24}N_2O.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

pH

Từ 4,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Định tính

A. Lấy chính xác một thể tích dung dịch chế phẩm chứa khoảng 2,5 mg oxymetazolin hydroclorid, cho vào bình gạn dung tích 60 ml, thêm nước cho đủ khoảng 10 ml. Thêm 2 ml dung dịch natri carbonat 10 % (TT). Chiết với 10 ml cloroform (TT), chuyển dịch chiết cloroform sang một bình gạn khác. Chiết với 10 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT). Để yên và gạn bỏ lớp cloroform. Lấy 8 ml lớp nước acid hóa cho vào một ống nghiệm, trung tính bằng vài giọt dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT). Thêm dư một giọt dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT). Lắc kỹ. Sau đó, thêm vài giọt dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT) và 2 giọt dung dịch natri hydroxyd 15 % (TT) để yên trong 10 phút. Thêm dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) cho tới pH khoảng 8 đến 9. Để yên 10 phút sẽ xuất hiện màu tím.

B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic oxymetazolin hydroclorid trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp methanol - dung dịch đệm amoni nitrat pH 9,5 (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy chính xác 2,0 ml dung dịch chế phẩm pha loãng với methanol (TT) vừa đủ 20,0 ml. Lọc.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng oxymetazolin hydroclorid chuẩn hòa tan trong nước để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với nồng độ oxymetazolin hydroclorid trong chế phẩm. Lấy 2,0 ml dung dịch thu được pha loãng với methanol (TT) vừa đủ 20,0 ml. Lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (250 × 4 mm) được nhồi pha tĩnh A (5 μ m).

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

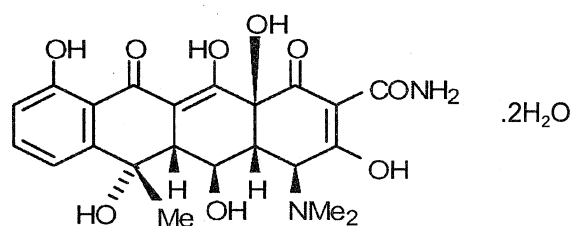
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng oxymetazolin hydroclorid, $C_{16}H_{24}N_2O.HCl$, trong chế phẩm dựa vào các diện tích của pic oxymetazolin hydroclorid thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và từ hàm lượng của oxymetazolin hydroclorid trong oxymetazolin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Nơi mát, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng

0,025 % và 0,05 %.

OXYTETRACYCLIN DIHYDRAT***Oxytetracyclinum dihydratum***

$C_{22}H_{24}N_2O_9.2H_2O$

P.t.l: 496,4

Oxytetracyclin dihydrat là (4S,4aR,5S,5aR,6S,12aS)-4-(dimethylamino)-3,5,6,10,12,12a-hexahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydro-tetracen-2-carboxamid dihydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{22}H_{24}N_2O_9$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Chế phẩm thu được từ quá trình nuôi cấy một số chủng *Streptomyces rimosus* hoặc từ các phương pháp khác.

Tính chất

Bột kết tinh vàng. Rất khó tan trong nước, tan trong các dung dịch acid và kiềm loãng.

Định tính

A. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel F_{254} .

Dung môi khai triển: Acetonitril - methanol - dung dịch acid oxalic 6,3 % đã được điều chỉnh pH đến 2,0 bằng amoniac đặc (20 : 20 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 5 mg chế phẩm trong methanol (TT), pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg oxytetracyclin chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg oxytetracyclin chuẩn, 5 mg tetracyclin hydroclorid chuẩn và 5 mg minocyclin hydroclorid chuẩn trong *methanol* (TT), pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 μ l các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng một luồng không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) phải cho ba vết tách ra rõ ràng.

B. Thêm 5 ml *acid sulfuric* (TT) vào 2 mg chế phẩm, màu đỏ đậm tạo thành. Thêm tiếp 2,5 ml *nước* vào dung dịch thu được, màu chuyển sang màu vàng.

C. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch acid nitric loãng* (TT) và 5 ml *nước*. Lắc và thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N* (CĐ). Dung dịch tạo thành không được đục hơn hỗn hợp gồm 1 ml *acid nitric loãng* (TT), 5 ml *dung dịch kali clorid 0,0021 %* và 1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N* (CĐ).

pH

Từ 4,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2)

Lắc kỹ để phân tán 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd* (TT), đem đo pH.

Góc quay cực riêng

Từ -203° đến -216°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Độ hấp thụ riêng

Từ 290 đến 310 tại bước sóng 353 nm, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 4.1).

Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *dung dịch đệm pH 2,0* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch đệm pH 2,0* (TT) và đem đo độ hấp thụ tại 353 nm.

Tạp chất hấp thụ ánh sáng

Đo độ hấp thụ của dung dịch trong vòng 1 giờ kể từ khi bắt đầu chuẩn bị dung dịch (Phụ lục 4.1).

Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 99) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ của dung dịch tại bước sóng 430 nm không được quá 0,25 (tính theo chế phẩm đã làm khô).

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 99) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ của

dung dịch tại bước sóng 490 nm không được quá 0,20 (tính theo chế phẩm đã làm khô).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Cân 60,0 g *2-methyl-2-propanol* (TT) chuyển vào bình định mức dung tích 1000 ml bằng 200 ml *nước*. Thêm 60 ml dung dịch đệm phosphat 0,33 M pH 7,5, 50 ml *dung dịch tetraethylamoni hydrosulfat 1,0 %* đã được chỉnh pH đến 7,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng* (TT). Thêm 10 ml *dung dịch natri edetat 0,04 %* đã được chỉnh pH đến 7,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng* (TT), pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*. Lọc và đuổi khí trước khi dùng.

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg oxytetracyclin chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20,0 mg 4-epioxytetracyclin chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20,0 mg tetracyclin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Trộn 1,5 ml dung dịch đối chiếu (1); 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và 3,0 ml dung dịch đối chiếu (3) và pha loãng thành 25,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (TT).

Dung dịch đối chiếu (4): Trộn 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và 4,0 ml dung dịch đối chiếu (3), pha loãng thành 200,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là styren-divinylbenzen copolyme (8 μ m).

Nhiệt độ cột: 60 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch phân giải. Độ phân giải giữa 4-epioxytetracyclin (pic đầu tiên) và oxytetracyclin (pic thứ hai) phải ít nhất bằng 4,0. Độ phân giải giữa oxytetracyclin và tetracyclin (pic thứ ba) phải ít nhất bằng 5,0. Điều chỉnh lượng 2-methyl-2-propanol trong pha động nếu cần thiết. Hệ số đối xứng của pic oxytetracyclin không được lớn hơn 1,25.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (4).

Giới hạn:

4-Epioxytetracyclin: Diện tích pic của 4-epioxy-tetracyclin trên sắc đồ dung dịch thử không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc đồ dung dịch đối chiếu (4) (0,5 %)

Tetracyclin: Diện tích pic của tetracyclin trên sắc đồ dung dịch thử không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc đồ dung dịch đối chiếu (4) (2,0 %).

2-Acetyl-2-decarbamyloxytetracyclin (được rửa giải trên phần đuôi của pic chính): Diện tích pic của 2-acetyl-2-decarbamyloxytetracyclin trên sắc ký đồ dung dịch thử không được lớn hơn 4 lần diện tích của pic của 4-epioxytetracyclin trên sắc đồ dung dịch đối chiếu (4) (2,0 %).

Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,02 lần diện tích pic của oxytetracyclin trên sắc ký đồ dung dịch phân giải (0,1 %).

Kim loại nặng

Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 6. Dùng 2,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Từ 6,0 % đến 9,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,250 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Điều kiện sắc ký như phần thử Tạp chất liên quan.

Tiến hành với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tính toán hàm lượng của $C_{20}H_{21}NO_4$ dựa vào diện tích pic chính của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản

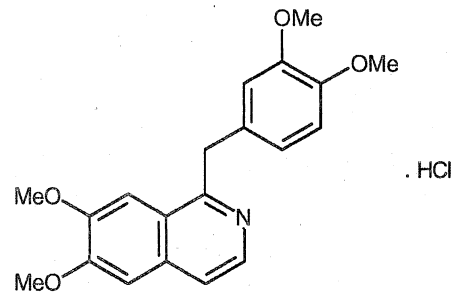
Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nén.

PAPAVERIN HYDROCLORID***Papaverini hydrochloridum***

$C_{20}H_{21}NO_4 \cdot HCl$

P.t.l: 375,9

Papaverin hydroclorid là 1-(3,4 - dimethoxybenzyl)-6,7-dimethoxyisoquinolin hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{20}H_{21}NO_4 \cdot HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể hay bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, không mùi.

Hơi tan trong nước, tan trong cloroform, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính

A. Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*, thêm cùng dung môi vừa đủ 100,0 ml thu được dung dịch (a). Hút 5,0 ml dung dịch (a) thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* vừa đủ 250,0 ml. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch được đo trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 270 nm có một cực đại hấp thụ ở 250 nm. A (1 %, 1 cm) ở cực đại 250 nm từ 1590 đến 1670. Hút 10,0 ml dung dịch (a), thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* vừa đủ 100,0 ml. Phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch được đo trong khoảng từ 270 nm đến 350 nm có 2 cực đại hấp thụ ở 280 nm đến 290 nm và ở 303 nm đến 313 nm. A (1 %, 1 cm) ở hai cực đại này tương ứng từ 140 đến 200 và từ 200 đến 250.

B. Cho 3 ml *anhydrid acetic (TT)* vào 10 mg chế phẩm, thêm cẩn thận 0,15 ml *acid sulfuric (TT)* và đun nóng trên cách thủy từ 3 phút đến 4 phút, xuất hiện màu vàng với huỳnh quang xanh.

C. Thêm từng giọt *amoniac đậm đặc (TT)* vào 10 ml dung dịch S và để lắng tủa. Tủa sau khi rửa và sấy khô có điểm chảy từ 146 °C đến 149 °C (Phụ lục 6.7).

D. Chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,4 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)*, đun nóng nhẹ nếu cần, và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Dung dịch S phải có pH từ 3,0 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).

Chất dễ carbon hóa

Thêm 5 ml *acid sulfuric* (TT) vào 50 mg chế phẩm và để 15 phút. Dung dịch không được có màu đậm hơn màu mẫu Đ₄ hoặc V₄ (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Alcaloid lạ

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Toluene - ethyl acetat - dimethylamin (70 : 20 : 10).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *cloroform* (TT), thêm cùng dung môi vừa đủ 10 ml.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg codein trong *cloroform* (TT), thêm cùng dung môi vừa đủ 100 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, sấy đến hết mùi của diethylamin và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất cứ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử đều không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, không kể vết còn lưu lại ở vạch xuất phát.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng lượng chế phẩm đã làm khô ở trên.

Định lượng

Hòa tan 0,350 g chế phẩm trong 40 ml *acid acetic* bằng (TT). Thêm 5 ml *dung dịch thủy ngân* (II) *acetat* (TT), dùng 0,05 ml *dung dịch tím tinh thể* (TT) làm chỉ thị và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N* (CĐ) đến khi dung dịch có màu xanh lục. Tiến hành song song mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 37,59 mg C₂₀H₂₁NO₄. HCl.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống co thắt.

Chế phẩm

Viên nén, viên nang tác dụng kéo dài, thuốc tiêm.

VIÊN NÉN PAPAVERIN HYDROCLORID

Tabellae Papaverini hydrochloridi

Là viên nén chứa papaverin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng papaverin hydroclorid, C₂₀H₂₁O₄N.HCl, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng, không mùi, vị đắng.

Định tính

Cân một lượng bột chế phẩm tương ứng với khoảng 30 mg papaverin hydroclorid, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (TT). Cho vào bình chiết và chiết bằng 10 ml *cloroform* (TT), lọc qua giấy lọc để thu lớp *cloroform*, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô và sấy cần ở 105 °C trong 2 giờ. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cần thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của papaverin hydroclorid.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng tới nồng độ thích hợp bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (TT), đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 250 nm. So sánh với dung dịch papaverin hydroclorid chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng một dung môi.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % lượng papaverin hydroclorid, C₂₀H₂₁O₄N.HCl, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg papaverin hydroclorid chuyển vào một bình nón có nút mài, thêm vào khoảng 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (TT), lắc bằng máy lắc trong 15 phút. Lọc hỗn hợp vào bình định mức 200 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (TT) đến định mức. Hút 3,0 ml dung dịch này cho vào một bình chiết, thêm 10 ml nước và kiềm hóa bằng *dung dịch amoniac 6 M* (TT). Chiết alkaloid 5 lần, mỗi lần bằng 5 ml *cloroform* (TT) và bốc hơi dịch chiết gộp đến khô. Hòa tan cần trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (TT) đến vừa đủ 100,0 ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 251 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydro-*

cloric 0,1 M (TT) làm mẫu trắng. Song song tiến hành với dung dịch papaverin hydroclorid chuẩn có nồng độ khoảng 4,5 µg/ml. Tính hàm lượng papaverin hydroclorid, $C_{20}H_{21}O_4N.HCl$, có trong viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{20}H_{21}O_4N.HCl$ trong papaverin hydroclorid.

Bảo quản

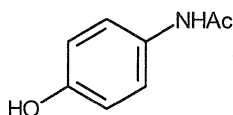
Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống co thắt.

Hàm lượng thường dùng

40 mg.

PARACETAMOL***Paracetamololum***

$C_8H_9NO_2$

P.t.l: 151,2

Paracetamol là *N*-(4-hydroxyphenyl) acetamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_8H_9NO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, không mùi. Hơi tan trong nước, rất khó tan trong cloroform, ether, methylen clorid, dễ tan trong dung dịch kiềm, ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của paracetamol chuẩn.

B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch, thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, thêm *methanol (TT)* thành 100,0 ml. Bảo quản dung dịch này tránh ánh sáng và đem đo ngay độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 249 nm.

A(1 %, 1 cm) phải trong khoảng 860 đến 980.

C. Điểm chảy (Phụ lục 6.7): 168 °C đến 172 °C

D. Đun nóng 0,1 g chế phẩm trong 1 ml *acid hydrocloric (TT)* trong 3 phút, thêm 1 ml nước, làm lạnh trong đá, không có tủa tạo thành. Thêm 0,05 ml *dung dịch kali dicromat 0,49 %*, xuất hiện màu tím và không chuyển sang màu đỏ.

E. Chế phẩm phải có phản ứng của nhóm acetyl (Phụ lục 8.1). Thực hiện phản ứng bằng cách đun trực tiếp trên lửa.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Các dung dịch được chuẩn bị ngay khi tiến hành thử nghiệm.

Pha động: Hỗn hợp gồm 375 thể tích *dung dịch dinatri hydrophosphat 1,79 %*, 375 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat 0,78 %* và 250 thể tích *methanol (TT)* có chứa 0,46 % của *dung dịch tetra-butylamoni hydroxid 40 %*.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 2,5 ml *methanol (TT)* có chứa 0,46 % *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 40 %* và pha loãng thành 10,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch dinatri hydrophosphat 1,79 %* và *dung dịch natri dihydrophosphat 0,78 %*.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml với pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg *4-aminophenol (TT)*, 5 mg paracetamol chuẩn và 5,0 mg *cloroacetanilid (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 250,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 20,0 mg *4-nitrophenol (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm). Duy trì nhiệt độ cột ở 35 °C

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 245 nm

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Tiêm các dung dịch đối chiếu.

Lấy paracetamol làm đối chiếu (thời gian lưu khoảng 4 phút): Thời gian lưu tương đối của tạp chất K khoảng 0,8; tạp chất F khoảng 3; tạp chất J khoảng 7.

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3):

Độ phân giải giữa pic của tạp chất K và pic của paracetamol ít nhất là 4;

Tỉ lệ giữa tín hiệu và nhiễu cho pic của tạp chất J ít nhất là 50.

Tiêm dung dịch thử và tiến hành chạy sắc ký với thời gian gấp 12 lần thời gian lưu của pic paracetamol.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Diện tích pic tạp chất J: không quá 0,2 lần diện tích của pic tương ứng trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (10 phần triệu)

Diện tích pic tạp chất K: không lớn hơn diện tích của pic tương ứng trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (50 phần triệu).

Diện tích pic tạp chất F: không lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic tương ứng trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (4) (0,05 %).

Diện tích pic của bất kỳ tạp chất nào khác: không lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Tổng diện tích pic của các tạp chất khác: không lớn hơn diện tích của pic tương ứng trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,01 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: *N*-(2-hydroxyphenyl)acetamid

Tạp chất B: *N*-(4-hydroxyphenyl)propanamid

Tạp chất C: *N*-(3-cloro-4-hydroxyphenyl)acetamid

Tạp chất D: *N*-phenylacetamid

Tạp chất E: 1-(4-hydroxyphenyl)ethanon

Tạp chất F: 4-nitrophenol

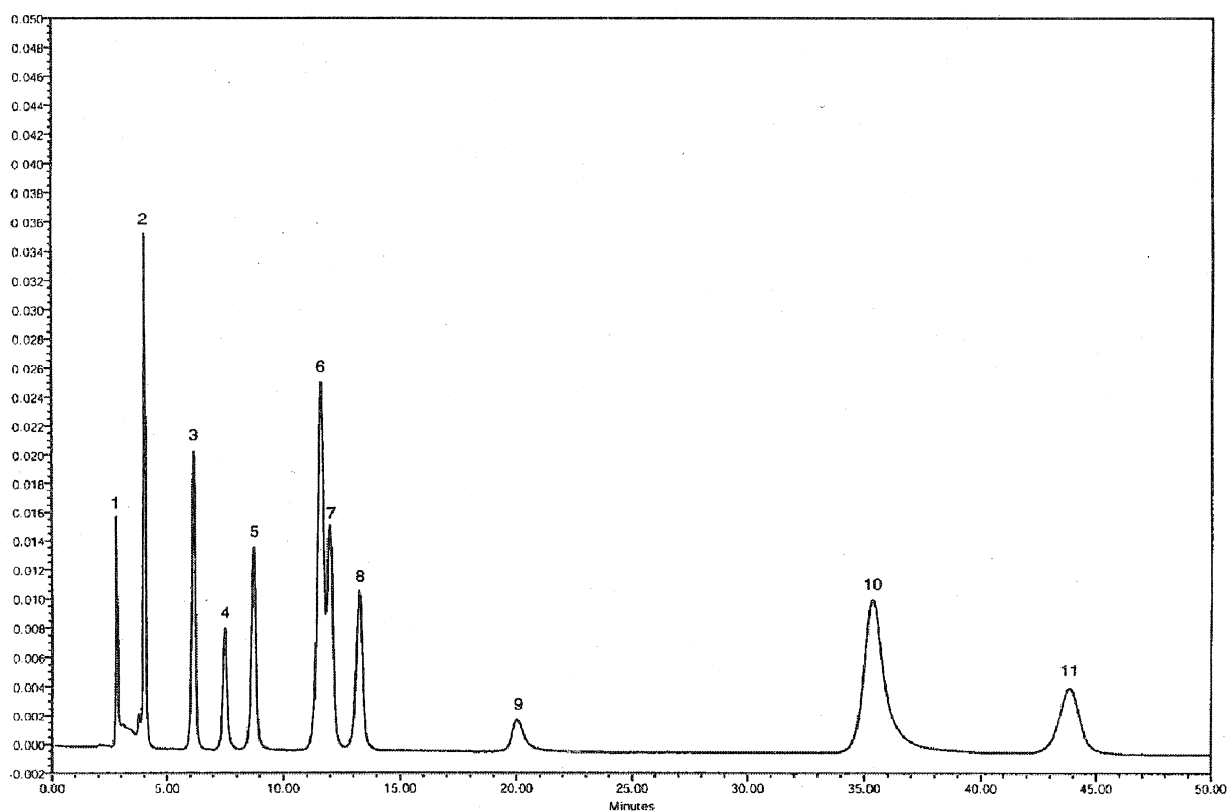
Tạp chất G: 1-(4-hydroxyphenyl)ethanon oxim

Tạp chất H: 4-(acetylamino)phenyl acetat

Tạp chất I: 1-(2-hydroxyphenyl)ethanon

Tạp chất J: *N*-(4-clorophenyl)acetamid (cloroacetanilid)

Tạp chất K: 4-aminophenol.



1. Tạp chất K
2. Paracetamol
3. Tạp chất B
4. Tạp chất A

5. Tạp chất C
6. Các tạp chất E và D
7. Tạp chất G
8. Tạp chất H

9. Tạp chất F
10. Tạp chất I
11. Tạp chất J

Hình 1. Sắc ký đồ của thử nghiệm các tạp chất liên quan

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp nước - acetone (15 : 85) rồi pha loãng thành 20,0 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi. Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 2. Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu thu được bằng cách pha loãng dung dịch chì mẫu 100 phần triệu (TT) với hỗn hợp dung môi trên để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

Dùng 1,000 g chế phẩm; sấy ở 100 °C đến 105 °C.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml nước và 30 ml dung dịch acid sulfuric loãng (TT). Đun sôi hồi lưu trong 1 giờ, làm lạnh và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước. Lấy 20,0 ml dung dịch, thêm 40 ml nước, 40 g nước đá, 15 ml dung dịch acid hydrochloric loãng (TT) và 0,1 ml dung dịch feroin (TT). Định lượng bằng dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ) cho đến khi xuất hiện màu vàng xanh. Song song tiến hành mẫu trắng trong cùng điều kiện. 1 ml dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ) tương đương với 7,56 mg $C_8H_9NO_2$.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Hạ sốt, giảm đau.

Chế phẩm

Viên nén, viên bao phim, hỗn dịch uống, dung dịch uống, viên nén sủi bọt.

NANG PARACETAMOL**Capsulae Paracetamoli**

Là nang cứng chứa paracetamol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng bên trong chứa bột thuốc màu trắng, không mùi.

Định tính

A. Lấy một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 0,5 g paracetamol, thêm 30 ml acetone (TT), khuấy kỹ,

lọc, làm bay hơi dịch lọc đến cạn, lấy cặn làm các phản ứng sau đây:

Đun sôi 0,1 g cặn với 1 ml acid hydrochloric (TT) trong 3 phút, thêm 10 ml nước cất, để nguội. Thêm 1 giọt dung dịch kali dicromat 5 % (TT) sẽ xuất hiện màu tím, không chuyển sang màu đỏ.

Sấy cặn ở 105 °C, độ chảy của cặn khoảng 168 °C đến 172 °C (Phụ lục 6.7).

B. Sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Methylene clorid - methanol (4 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 10 mg paracetamol trong 10 ml methanol (TT). Lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg paracetamol chuẩn trong 10 ml methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl các dung dịch h trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí kích thước và màu sắc với vết chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml đệm phosphat pH 5,8.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT) để được dung dịch có nồng độ paracetamol khoảng 7,5 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 257 nm, mẫu trắng là dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT). Tính hàm lượng paracetamol hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 715 là giá trị A (1 %, 1 cm) của paracetamol ở bước sóng 257 nm.

Yêu cầu: Không được dưới 75 % lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

4-Aminophenol

Không được quá 0,1 %.

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch natri butansulfonat 0,01 M trong hỗn hợp acid formic - methanol - nước (0,4 : 15 : 85).

Dung dịch chuẩn: Chứa 0,001 % 4-aminophenol trong methanol 15 %.

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng 1,0 g paracetamol trong 15 ml methanol (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml và lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 272 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 μ l.
Cách tiến hành: Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, pic tương ứng với 4-aminophenol không được có diện tích lớn hơn diện tích pic 4-aminophenol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (0,1 %).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Toluen - acetone - chloroform* (10 : 25 : 65).

Dung dịch thử (1): Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 1,0 g paracetamol vào ống ly tâm có nắp, thêm chính xác 5 ml *ether không có peroxyd* (TT), đậy nắp, lắc cơ học 30 phút. Ly tâm với tốc độ 1000 r/min trong khoảng 15 phút hoặc cho đến khi thu được dung dịch hoàn toàn trong.

Dung dịch thử (2): Lấy chính xác 1 ml dung dịch thử (1) pha loãng vừa đủ với 10 ml *ethanol 96 %* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Chứa 0,0050 % 4'-cloroacetanilid trong *ethanol 96 %* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 0,25 g 4'-cloroacetanilid và 0,1 g paracetamol vừa đủ 100 ml với *ethanol 96 %* (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng các dung dịch trên như sau: 200 μ l dung dịch thử (1), 40 μ l dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2). Cho dung môi khai triển vào bình sắc ký không lót giấy và đặt ngay bản mỏng vừa chấm các dung dịch vào bình. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 14 cm. Sau khi triển khai, để bản mỏng khô hoàn toàn, quan sát dưới sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) tương ứng với vết của 4'-cloroacetanilid không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), có giá trị R_f thấp hơn giá trị R_f của 4'-cloroacetanilid không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2) có 2 vết tách ra rõ ràng, vết tương ứng với 4'-cloroacetanilid phải có giá trị R_f cao hơn.

Định lượng

Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong một nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 0,150 g paracetamol vào bình định mức 200 ml, thêm 50 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (TT), thêm 100 ml *nước*, lắc 15 phút. Thêm *nước* đến định mức. Lắc đều,

lọc. Loại bỏ 10 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 10 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml, pha loãng với *nước* đến định mức, lắc đều. Lấy chính xác 10 ml dung dịch này cho vào bình định mức 100 ml khác, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (TT), pha loãng với *nước* đến định mức, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 257 nm, cốc dày 1 cm. Dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M* (TT) làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 715 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 257 nm.

Bảo quản

Đề nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Hạ sốt, giảm đau.

Hàm lượng thường dùng

500 mg.

VIÊN ĐẶT PARACETAMOL

Suppositoria Paracetamoli

Là viên đặt chứa paracetamol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc đặt" (Phụ lục 1.10) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên đặt có hình dạng thích hợp để đặt trực tràng.

Định tính

A. Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Methanol - dicloromethan* (1 : 4)

Dung dịch thử: Lấy 1 viên chế phẩm, thêm một thể tích *methanol* (TT) thích hợp để thu được dung dịch có nồng độ paracetamol 0,1 %. Đặt trên cách thủy cho đến khi chế phẩm tan, để nguội, thỉnh thoảng khuấy, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch paracetamol chuẩn 0,1 % trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương đương về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Cân một lượng thuốc tương ứng khoảng 50 mg paracetamol, cắt nhỏ, thêm 1 ml *acid hydrochloric* (TT)

và đun đến sôi trong 3 phút, thêm 10 ml nước, để nguội không tạo kết tủa. Thêm 0,05 ml dung dịch kali dicromat (TT), xuất hiện màu tím không chuyển sang đỏ.

4-aminophenol

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch natri butansulfonat 0,01 M trong hỗn hợp acid formic - methanol - nước (0,4 : 15 : 85).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch 4-aminophenol 0,0005 % trong pha động.

Dung dịch thử: Lấy một lượng chế phẩm trong số năm viên đã được cắt nhỏ, hòa tan trong lượng tối thiểu ethanol 96 % (TT), làm ẩm nếu cần, lắc cho tan rồi pha loãng với nước để có dung dịch có nồng độ khoảng 0,5 % paracetamol.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tinh C (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 272 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, pic tương ứng với 4-aminophenol không được có diện tích lớn hơn diện tích pic 4-aminophenol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (0,1 %).

Định lượng

Viên đặt có chứa hoạt chất lớn hơn 150 mg:

Lấy một viên, thêm 30 ml nước và 100 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT). Đun hồi lưu trong 1 giờ, để nguội, thêm 100 ml nước, 50 g nước đá (đông lạnh từ nước cất), 50 ml dung dịch acid hydrochloric loãng (TT) và 0,2 ml dung dịch feroiin sulfat (TT).

Chuẩn độ bằng dung dịch amoni ceri sulfat 0,2 M (CĐ) cho đến khi xuất hiện màu vàng.

1 ml dung dịch amoni ceri sulfat 0,2 M (CĐ) tương ứng 15,12 mg paracetamol, $C_8H_9NO_2$.

Lặp lại phép thử trên bốn viên khác. Tính hàm lượng trung bình của một viên.

Viên đặt có chứa hoạt chất nhỏ hơn hoặc bằng 150 mg:

Lấy một viên thêm 10 ml nước và 30 ml dung dịch acid sulfuric loãng (TT). Đun hồi lưu trong 1 giờ, để nguội, thêm 40 ml nước, 40 g nước đá (đông lạnh từ nước cất), 15 ml dung dịch acid hydrochloric loãng (TT) và 0,1 ml dung dịch feroiin sulfat (TT).

Chuẩn độ bằng dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ) cho đến khi xuất hiện màu vàng.

1 ml dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ) tương ứng với 7,56 mg $C_8H_9NO_2$.

Lặp lại phép thử trên bốn viên khác. Tính hàm lượng trung bình của một viên.

Bảo quản

Trong bao bì kín, nhiệt độ từ 4 °C đến 8 °C.

Loại thuốc

Giảm đau, hạ sốt.

Hàm lượng thường dùng

500 mg.

VIÊN NÉN PARACETAMOL

Tabellae Paracetamoli

Là viên nén chứa paracetamol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng của paracetamol, $C_8H_9NO_2$,

Đối với viên 100 mg: Từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Đối với viên 300 mg và 500 mg: từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng, không mùi.

Định tính

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu định tính trong chuyên luận “Nang paracetamol” thay bột thuốc trong nang bằng bột viên.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu và phép thử Độ hòa tan trong chuyên luận “Nang paracetamol”.

4-Aminophenol

Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu và phép thử 4-Aminophenol trong chuyên luận “Nang paracetamol” thay bột thuốc trong nang bằng bột viên.

Tạp chất liên quan

Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu và phép thử Tạp chất liên quan trong chuyên luận “Nang paracetamol” thay bột thuốc trong nang bằng bột viên.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,15 g paracetamol vào bình định mức 200 ml, thêm 50 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT) và 100 ml nước, lắc 15 phút, thêm nước đến định mức. Lắc đều, lọc qua giấy lọc khô, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 10 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml. Thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lấy chính xác 10 ml dung dịch trên cho vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT), thêm nước đến định mức, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 257 nm, dùng cốc dày 1 cm. Mẫu trắng là dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT).

Tính hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$ theo A (1 %, 1 cm). Lấy 715 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 257 nm.

Bảo quản

Đề nơi mát, trong đồ đựng kín.

Loại thuốc

Giảm đau, hạ sốt.

Hàm lượng thường dùng

100 mg, 300 mg, 500 mg.

VIÊN SỦI PARACETAMOL

Effervescentis tabellae Paracetamoli

Là viên nén sủi chứa paracetamol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu của viên sủi trong chuyên luận “Thuốc viên nén” mục “Viên sủi bột” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Hòa tan viên với nước ấm, sau khi viên hết sủi bọt, dung dịch thu được phải hơi đục.

B. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) ở phần Định lượng trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm. Phổ thu được phải có cực đại hấp thụ ở bước sóng 257 nm.

C. Trong phần thử Tạp chất liên quan, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (3) phải tương ứng về vị trí, kích thước, màu sắc với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

4-aminophenol

Không được quá 0,1 %.

Tiến hành thử như mô tả trong chuyên luận “Nang paracetamol”, thay bột thuốc trong nang bằng bột viên.

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Toluên - acetone - cloroform (10 : 25 : 65)

Dung dịch thử (1): Lấy một lượng bột viên tương ứng với 1,0 g paracetamol, cho vào ống ly tâm có nắp, thêm vào 10 ml ether không có peroxyl (TT), đậy nắp, lắc cơ học 30 phút. Ly tâm với vận tốc 1000 r/min khoảng 15 phút hoặc cho đến khi thu được lớp dung dịch phía trên hoàn toàn trong. Sử dụng lớp dung dịch này.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch (1) thành 10 ml với ethanol 96 % (TT).

Dung dịch thử (3): Lấy một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g paracetamol hòa tan vừa đủ với 100 ml ethanol 96 % (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch chứa 0,0025 % (kl/tt) 4'-cloroacetanilid trong ethanol 96 % (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 0,25 g 4'-cloroacetanilid và 0,1 g paracetamol chuẩn vừa đủ với 100 ml ethanol 96 % (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Dung dịch có chứa 0,1 % paracetamol chuẩn trong ethanol 96 % (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng các dung dịch trên như sau: 200 µl dung dịch thử (1); 40 µl mỗi dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1), dung dịch đối chiếu (2), dung dịch thử (3), dung dịch đối chiếu (3). Cho dung môi khai triển vào bình sắc ký không lót giấy và đặt ngay bản mỏng vừa chấm các dung dịch vào bình. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô hoàn toàn ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết nào trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) tương ứng với vết của 4'-cloroacetanilid cũng không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) (0,005 %).

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) có giá trị R_f thấp hơn giá trị R_f của 4'-cloroacetanilid không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) (0,25 %).

Loại bỏ bất cứ vết phụ nào nằm tại vạch hay ngay trên vạch chấm sắc ký.

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách rõ ràng riêng biệt, vết tương ứng với 4'-cloroacetanilid phải có giá trị R_f cao hơn.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,150 g paracetamol cho vào bình định mức 200 ml, thêm 50 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT) và chờ cho dung dịch hết sủi bọt, thêm 100 ml nước, lắc kỹ 15 phút. Thêm nước đến định mức, lắc đều. Lọc, loại bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với nước. Lấy chính xác 10 ml dung dịch này cho vào bình định mức thể tích 100 ml, thêm 10 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT). Pha loãng với nước đến định mức. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 257 nm, cốc đo dày 1 cm. Dùng dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng paracetamol ($C_8H_9NO_2$) theo A (1 %, 1 cm). Lấy 715 là giá trị A (1 %, 1 cm), ở bước sóng 257 nm.

Bảo quản

Đề nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Giảm đau, hạ sốt.

Hàm lượng thường dùng

500 mg.

VIÊN NÉN PARACETAMOL VÀ CAFEIN

Tabellae Paracetamoli et Coffeini

Là viên nén chứa paracetamol và cafein.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, và **cafein**, $C_8H_{10}N_4O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

Trong phần định lượng, thời gian lưu tương đối của các pic chính paracetamol và cafein so với pic chuẩn nội trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử và dung dịch chuẩn phải phù hợp với nhau.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 60 min.

Pha động, dung dịch chuẩn nội, hỗn hợp dung môi, dung dịch chuẩn gốc, điều kiện sắc ký và cách tiến hành thực hiện như mô tả trong phần Định lượng.

Dung dịch chuẩn: Hút chính xác 20,0 ml dung dịch chuẩn gốc vào bình định mức 50 ml, thêm chính xác 3,0 ml dung dịch chuẩn nội và 20 ml nước, trộn đều, để yên khoảng 30 giây. Pha loãng bằng hỗn hợp dung môi đến định mức, trộn đều. Dung dịch này sử dụng trong vòng 8 giờ.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy một thể tích chính xác dịch lọc cho vào bình định mức 50 ml sao cho dung dịch thu được có nồng độ paracetamol 0,1 mg/ml và nồng độ cafein 0,1J mg/ml, J được xác định ở dung dịch chuẩn gốc. Thêm chính xác 3,0 ml dung dịch chuẩn nội và 20 ml hỗn hợp dung môi, trộn đều, để yên khoảng 30 giây. Pha loãng bằng hỗn hợp dung môi đến định mức, trộn đều.

Tính hàm lượng của paracetamol, $C_8H_9NO_2$, và cafein, $C_8H_{10}N_4O_2$, đã hòa tan trong mỗi viên từ tỷ số giữa diện tích pic paracetamol hoặc cafein và diện tích pic chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ paracetamol và cafein trong dung dịch chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, và cafein, $C_8H_{10}N_4O_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - methanol - acid acetic băng (69 : 28 : 3), điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn nội: Chuẩn bị dung dịch acid benzoic trong methanol (TT) có nồng độ khoảng 6 mg/ml.

Hỗn hợp dung môi: Methanol - acid acetic băng (95 : 5).

Dung dịch chuẩn gốc: Hòa tan chính xác một lượng paracetamol chuẩn và cafein chuẩn trong hỗn hợp dung môi để thu được dung dịch có nồng độ 0,25 mg/ml của paracetamol và 0,25J mg/ml của cafein, J là tỷ lệ lượng ghi trên nhãn của cafein và lượng ghi trên nhãn của paracetamol trong viên.

Dung dịch chuẩn: Hút chính xác 20,0 ml dung dịch chuẩn gốc và 3,0 ml dung dịch chuẩn nội vào bình định mức 50 ml, pha loãng bằng hỗn hợp dung môi đến định mức, trộn đều. Dung dịch thu được có nồng độ paracetamol khoảng 0,1 mg/ml và nồng độ cafein khoảng 0,1J mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 250 mg paracetamol vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 75 ml hỗn hợp dung môi, lắc trên máy lắc 30 phút. Pha loãng bằng hỗn hợp dung môi đến định mức, trộn đều. Hút chính xác 2,0 ml dung dịch này và 3,0 ml dung dịch chuẩn nội vào bình định mức 50 ml, pha loãng bằng hỗn hợp dung môi đến định mức, trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tinh C (5 μm).

Nhiệt độ cột: 45 °C ± 1 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 275 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Hệ số đối xứng của pic tương ứng với paracetamol và cafein không được lớn hơn 1,2. Độ phân giải giữa pic tương ứng với paracetamol, cafein và pic chuẩn nội không được nhỏ hơn 1,4. Độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Thời gian lưu tương đối của paracetamol khoảng 0,3, của cafein khoảng 0,5 và của acid benzoic là 1,0.

Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và dựa vào hàm lượng $C_8H_9NO_2$ của paracetamol chuẩn và $C_8H_{10}N_4O_2$ của cafein chuẩn,

tính hàm lượng paracetamol $C_8H_9NO_2$, và cafein, $C_8H_{10}N_4O_2$, có trong một đơn vị chế phẩm từ tỷ số giữa diện tích pic paracetamol hoặc cafein và diện tích pic chất chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ paracetamol và cafein trong dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín ở nhiệt độ từ 15 °C đến 30 °C.

Loại thuốc

Giảm đau, hạ sốt.

Hàm lượng thường dùng

200 mg paracetamol, 50 mg cafein.

500 mg paracetamol, 65 mg cafein.

VIÊN NÉN PARACETAMOL VÀ CLORPHENIRAMIN

Tabellae Paracetamoli et Chlorpheniramini

Là viên nén chứa paracetamol và clorpheniramin maleat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng clorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu đồng đều.

Định tính

A. Trong phần Định lượng paracetamol, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic paracetamol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Trong phần Định lượng clorpheniramin maleat, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic clorpheniramin maleat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT) để được dung dịch có nồng độ paracetamol khoảng 7,5 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 257 nm, mẫu trắng là dung dịch

natri hydroxyd 0,1 M (TT). Tính hàm lượng paracetamol hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 715 là giá trị A (1 %, 1 cm) của paracetamol ở bước sóng 257 nm.

Yêu cầu: Không được dưới 75 % lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng paracetamol

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - methanol - acid acetic băng (79 : 20 : 1), điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg paracetamol chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 4 ml methanol (TT), lắc cho tan hoàn toàn, pha loãng với dung dịch acid phosphoric 1 % (TT) đến định mức, trộn đều.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg paracetamol vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 7,5 ml methanol (TT), siêu âm cho bột phân tán hoàn toàn, thêm 0,5 ml acid phosphoric (TT), pha loãng với nước đến định mức, trộn đều. Hút 25,0 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml, pha loãng với nước đến định mức, trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (octylsilyl silica gel, hạt 5 µm đến 10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic paracetamol không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không quá 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, có trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_9NO_2$ của paracetamol chuẩn.

Định lượng clorpheniramin maleat

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp methanol - nước (60 : 40) có chứa 0,34 g kali dihydrophosphat (TT); 0,3 g triethylamin hydroclorid (TT); 0,15 g natri laurylsulfat (TT) và 0,1 ml acid phosphoric (TT) trong mỗi 100 ml dung dịch, điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác và hòa tan trong nước một lượng clorpheniramin maleat chuẩn để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,8 mg/ml. Tiếp

tục pha loãng dung dịch này bằng *dung dịch acid phosphoric 0,1 % (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 8 µg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 2 mg clorpheniramin maleat vào bình định mức 250 ml, thêm 25 ml *methanol (TT)*, siêu âm cho bột phân tán hoàn toàn, thêm 1 ml *acid phosphoric (TT)*, pha loãng với nước vừa đủ đến vạch, trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tinh silica liên kết với các nhóm phenyl (hạt 5 µm đến 10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 214 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Kiểm tra tính thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic clorpheniramin maleat không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không quá 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng clorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$, có trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$ của clorpheniramin maleat chuẩn.

Đối với viên phải thử độ đồng đều hàm lượng, lấy kết quả định lượng trung bình của 10 viên làm kết quả định lượng.

Độ đồng đều hàm lượng

Chế phẩm có lượng clorpheniramin maleat dưới 2 mg trong 1 viên hoặc dưới 2 % khối lượng viên phải đạt yêu cầu về độ đồng đều hàm lượng đối với clorpheniramin maleat (Phụ lục 11.2).

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động, điều kiện sắc ký, cách tiến hành như mô tả trong mục “Định lượng clorpheniramin maleat”.

Dung dịch thử: Lấy 1 viên nghiền thành bột mịn rồi chuyển vào bình định mức 250 ml, thêm 25 ml *methanol (TT)*, siêu âm cho bột phân tán hoàn toàn, thêm 1 ml *acid phosphoric (TT)*, pha loãng với nước vừa đủ đến vạch, trộn đều.

Dung dịch chuẩn: Tiến hành như mô tả trong mục “Định lượng clorpheniramin maleat”. Pha loãng (nếu cần) để có được nồng độ clorpheniramin maleat tương ứng với nồng độ clorpheniramin maleat trong dung dịch thử.

Tính hàm lượng clorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$, trong một viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$ của clorpheniramin maleat chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, ở nhiệt độ từ 15 °C đến 30 °C.

Loại thuốc

Thuốc giảm đau, kháng histamin.

Hàm lượng thường dùng

500 mg paracetamol; 4 mg hoặc 2 mg clorpheniramin maleat.

VIÊN NÉN PARACETAMOL VÀ CODEIN PHOSPHAT

Tabellae Paracetamoli et Codeini phosphas

Là viên nén chứa paracetamol và codein phosphat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn

Hàm lượng codein phosphat hemihydrat,

$C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4 \cdot \frac{1}{2}H_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic paracetamol và pic codein phosphat thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Methanol - amoniac (49 : 1).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng khoảng 12 mg codein phosphat cho vào bình chiết, thêm 5 ml nước, 1 ml amoniac (TT) và 5 ml methylen clorid (TT), lắc 1 phút, để yên cho tách lớp, sử dụng lớp dung dịch dưới làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Pha dung dịch codein phosphat chuẩn và paracetamol chuẩn trong methylen clorid (TT) để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với nồng độ codein phosphat và paracetamol trong dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng, lấy bản mỏng ra, để khô tự nhiên và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí và kích thước tương ứng với hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Xác định hàm lượng paracetamol $C_8H_9NO_2$ và codein phosphat hemihydrat $C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ bằng phương pháp sắc ký lỏng như phần Định lượng, sử dụng dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT) để chuẩn bị dung dịch chuẩn gốc codein phosphat và để pha dung dịch chuẩn. Điều chỉnh nồng độ nếu cần bằng dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT).

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, và codein phosphat hemihydrat, $C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4 \cdot \frac{1}{2}H_2O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Hòa tan 2,04 g kali dihydrophosphat (TT) trong khoảng 950 ml nước. Thêm 2 ml triethylamin (TT), điều chỉnh về pH 2,35 bằng acid phosphoric (TT), pha loãng với nước thành 1000 ml và trộn đều.

Pha động: Dung dịch đệm - methanol (TT) (92 : 8). Lọc và đuổi khí. Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn gốc codein phosphat: Chuẩn bị dung dịch codein phosphat chuẩn trong pha động có nồng độ chính xác khoảng 0,3 mg/ml.

Dung dịch chuẩn: Chuyển 30 mg, cân chính xác, paracetamol chuẩn và 100J ml dung dịch chuẩn gốc codein phosphat, J là tỷ lệ lượng ghi trên nhãn (mg) của codein phosphat hemihydrat và lượng ghi trên nhãn của paracetamol (mg) trong một viên, vào bình định mức 100 ml. Pha loãng bằng pha động đến định mức.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 300 mg paracetamol vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 75 ml pha động, siêu âm trong 10 phút. Pha loãng bằng pha động đến vạch và trộn đều. Lấy chính xác 5 ml dung dịch này cho vào bình định mức 50 ml. Pha loãng bằng pha động đến vạch và trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tinh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 214 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 30 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Độ phân giải giữa

pic paracetamol và pic codein phosphat không được nhỏ hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic đáp ứng từ các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 % đối với pic paracetamol và 3,0 % đối với pic codein phosphat.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng paracetamol $C_8H_9NO_2$, và hàm lượng codein phosphat hemihydrat, $C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4 \cdot \frac{1}{2}H_2O$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_9NO_2$ của paracetamol chuẩn, hàm lượng $C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ của codein phosphat chuẩn.

Độ đồng đều hàm lượng codein phosphat

Chế phẩm có lượng codein phosphat dưới 60 mg trong một viên thì phải đạt yêu cầu về “Độ đồng đều hàm lượng” đối với codein phosphat (Phụ lục 11.2).

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung môi hòa tan, dung dịch chuẩn: Như mô tả trong mục “Định lượng”.

Dung dịch thử: Lấy 1 viên nghiền thành bột mịn rồi chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 75 ml pha động, siêu âm trong 10 phút. Pha loãng bằng pha động đến vạch và lắc đều. Lọc, pha loãng dịch lọc bằng pha động để có nồng độ codein phosphat tương đương với nồng độ codein phosphat trong dung dịch chuẩn.

Điều kiện sắc ký và cách tiến hành: Như mô tả trong mục “Định lượng”.

Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn và dựa vào hàm lượng $C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ của codein phosphat chuẩn, tính hàm lượng codein phosphat hemihydrat $C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ có trong viên.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng ở nhiệt độ 15 °C đến 30 °C.

Loại thuốc

Giảm đau, hạ sốt.

Hàm lượng thường dùng

300 mg paracetamol, 60 mg codein phosphat;
600 mg paracetamol, 60 mg codein phosphat;
500 mg paracetamol, 30 mg codein phosphat;
500 mg paracetamol, 15 mg codein phosphat.

PEPSIN

Pepsinum

Pepsin là chế phẩm dạng bột chứa men tiêu protein, lấy từ niêm mạc còn tươi của dạ dày lợn, trâu, bò hoặc cừu, tác dụng trong môi trường acid (pH từ 1 đến 5), phải có hoạt lực không ít hơn 0,5 đơn vị trong 1 mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Động vật lấy bột pepsin phải đáp ứng các yêu cầu về sức khỏe động vật phù hợp sử dụng cho người và yêu cầu của cơ quan có thẩm quyền.

Phải chỉ ra phương pháp đã dùng để loại bỏ sự nhiễm virus hay các tác nhân gây nhiễm khác.

Tính chất

Bột kết tinh hoặc vô định hình màu trắng hay vàng nhạt, hút ẩm. Tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Dung dịch trong nước có thể hơi đục lơ và có phản ứng acid nhẹ.

Định tính

Trong cối sứ cho 30 mg *fibrin xanh* (TT), tạo hỗn dịch với 20 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT). Lọc hỗn dịch và rửa giấy lọc với *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT) cho đến khi dịch lọc không màu. Chọc thủng giấy lọc và rửa fibrin xanh qua lỗ thủng vào một bình nón bằng 20 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT). Lắc hỗn hợp này trước khi dùng. Hòa tan một lượng chế phẩm không ít hơn 20 đơn vị hoạt lực trong 2 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT) và điều chỉnh đến pH $1,6 \pm 0,1$ (dung dịch thử). Cho vào hai ống nghiệm, mỗi ống 4 ml hỗn dịch fibrin được điều chế ở trên. Thêm vào một ống 1 ml dung dịch thử và ống còn lại 1 ml *nước* (mẫu trắng). Trộn đều các ống và cho vào nồi cách thủy ở 25°C , lắc nhẹ trong 15 phút. Dung dịch mẫu trắng không có màu và dung dịch thử phải có màu xanh.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; phosphor pentoxyd; áp suất không quá 0,7 kPa; 60°C ; 4 h).

Giới hạn vi khuẩn

Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được: Không được quá 10^4 khuẩn lạc/gam.

1,0 g chế phẩm không được có *Escherichia coli* và 10 g chế phẩm không được có *Salmonella* (Phụ lục 13.6).

Định lượng

Hoạt lực của pepsin được xác định bằng cách so sánh lượng peptid không bị tủa bởi *dung dịch acid trichloroacetic* (TT) và được định lượng bằng cách sử dụng *thuốc thử phosphomolibdotungstic* (TT), giải phóng từng phút từ cơ chất là dung dịch hemoglobin, với lượng peptid giải phóng từ pepsin đối chiếu với cùng cơ chất và cùng điều kiện.

Tránh lắc và làm sủi bọt các dung dịch thử và dung dịch chuẩn trong quá trình định lượng.

Dung dịch thử: Chuẩn bị ngay trước khi dùng một dung dịch chế phẩm chứa 0,5 đơn vị/ml trong *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT). Trước khi pha loãng

đến thể tích cần thiết điều chỉnh đến pH $1,6 \pm 0,1$ nếu cần bằng *dung dịch acid hydrochloric 1 M* (TT).

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị dung dịch pepsin chuẩn chứa 0,5 đơn vị/ml trong *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT). Trước khi pha loãng điều chỉnh đến pH $1,6 \pm 0,1$ nếu cần bằng *dung dịch acid hydrochloric 1 M* (TT).

Chỉ pha trong vòng 15 phút trước khi dùng. Chuẩn bị các cặp ống nghiệm T, T_b, S₁, S_{1b}, S₂, S_{2b}, S₃, S_{3b} và ống B.

Thêm *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT) vào các ống nghiệm như sau:

B: 1,0 ml

S₁ và S_{1b}: 0,5 ml

S₂, S_{2b}, T, và T_b: 0,25 ml

Thêm dung dịch đối chiếu vào các ống nghiệm như sau:

S₁ và S_{1b}: 0,5 ml

S₂ và S_{2b}: 0,75 ml

S₃ và S_{3b}: 1,0 ml

Thêm 0,75 ml dung dịch thử vào ống nghiệm T và T_b.

Thêm 10,0 ml *dung dịch acid trichloroacetic* (TT) vào các ống S_{1b}, S_{2b}, S_{3b}, T_b và B. Trộn đều.

Đặt các ống nghiệm và *dung dịch hemoglobin* (TT) trong cách thủy ở nhiệt độ $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Khi nhiệt độ đã cân bằng, thêm 5,0 ml *dung dịch hemoglobin* (TT) vào ống nghiệm B, S_{1b}, S_{2b}, S_{3b} và T_b. Trộn đều. Thêm 5,0 ml *dung dịch hemoglobin* (TT) lần lượt và cách nhau 30 giây vào ống nghiệm S₁, S₂, S₃ và T. Trộn đều ngay sau mỗi lần thêm.

Đúng 10 phút sau khi thêm *dung dịch hemoglobin* (TT) dùng phản ứng bằng cách thêm 10,0 ml *dung dịch acid trichloroacetic* (TT) vào ống S₁, S₂, S₃ và T mỗi lần cách nhau 30 giây. Trộn đều.

Lọc các ống nghiệm (thử và trắng) qua giấy lọc thích hợp đã được rửa trước bằng *dung dịch acid trichloroacetic 5 %* (TT) sau đó là *nước* và làm khô. Bỏ 5 ml dịch lọc đầu. Lấy 3,0 ml mỗi dịch lọc riêng biệt vào ống nghiệm chứa 20 ml *nước*. Trộn đều.

(Giấy lọc thích hợp là giấy lọc đáp ứng các phép thử sau: Lọc 5 ml *dung dịch acid trichloroacetic 5 %* (TT) qua một giấy lọc trắng, tròn, đường kính 7 cm. Độ hấp thụ của dịch lọc ở 275 nm (Phụ lục 4.1), dùng *dung dịch acid trichloroacetic 5 %* (TT) không lọc làm mẫu trắng, phải ít hơn 0,04).

Toàn bộ quá trình trên được ghi ở Bảng A.

Thêm vào mỗi ống nghiệm 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 20 %* (TT) và 1,0 ml *thuốc thử phosphomolibdotungstic* (TT) bắt đầu từ các ống trắng sau là các ống thử theo thứ tự như trên.

Sau 15 phút đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch S₁, S₂, S₃, S_{1b}, S_{2b}, S_{3b}, T và T_b ở bước sóng 540 nm dùng dịch lọc của ống B làm mẫu trắng.

Hiệu chỉnh độ hấp thụ của dịch lọc từ ống S_1 , S_2 , S_3 bằng cách lấy độ hấp thụ đo được trừ đi độ hấp thụ dịch lọc S_{1b} , S_{2b} , S_{3b} theo thứ tự.

Vẽ đường cong chuẩn giữa độ hấp thụ đã tính và hoạt lực dung dịch đối chiếu đã dùng.

Xác định hoạt lực của chế phẩm dùng độ hấp thụ của dung dịch thử ($T - T_b$) từ đường cong chuẩn và tính toán độ pha loãng.

Bảo quản

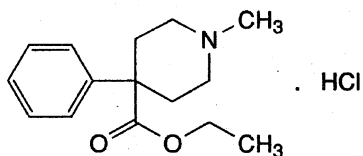
Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng và ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Bảng A

Ống nghiệm									
	S_1	S_{1b}	S_2	S_{2b}	S_3	S_{3b}	T	T_b	B
Dung dịch acid hydrochloric loãng (TT) (ml)	0,5	0,5	0,25	0,25			0,25	0,25	1,0
Dung dịch đối chiếu (ml)	0,5	0,5	0,75	0,75	1,0	1,0			
Dung dịch thử (ml)							0,75	0,75	
Dung dịch acid trichloroacetic (TT) (ml)		10,0		10,0		10,0		10,0	10,0
Trộn		+		+		+		+	+
Trong cách thủy ở 25 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dung dịch hemoglobin (TT) (ml)		5,0		5,0		5,0		5,0	5,0
Trộn		+		+		+		+	+
Dung dịch hemoglobin (TT) (ml)	5,0		5,0		5,0		5,0		
Trộn	+		+		+		+		
Trong cách thủy ở 25 °C 10 phút	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dung dịch acid trichloroacetic (TT) (ml)	10,0		10,0		10,0		10,0		
Trộn	+		+		+		+		
Lọc	+	+	+	+	+	+	+	+	+

PETHIDIN HYDROCLORID

Pethidini hydrochloridum



$C_{15}H_{21}NO_2 \cdot HCl$

P.t.l: 283,8

Pethidin hydroclorid là ethyl-1-methyl-4-phenyl-piperidin-4-carboxylat hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{15}H_{21}NO_2 \cdot HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Sản xuất: Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm thì qui trình sản xuất phải được thẩm định

để chứng minh giới hạn tạp chất B không quá 0,1 phần triệu.

Tính chất

Bột kết tinh trắng.

Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, D.

Nhóm II: A, C, D.

A. Điểm chảy của chế phẩm phải từ 187 °C đến 190 °C (Phụ lục 6.7).

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của pethidin hydroclorid chuẩn.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *ethanol* (TT) và thêm 10 ml *dung dịch acid picric 1 %* (TT). Tủa tinh thể thu được sau khi rửa với nước và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C chảy trong khoảng 186 °C đến 193 °C. Trộn đều đồng lượng tủa thu được và chế phẩm, xác định điểm chảy của hỗn hợp. Điểm chảy của hỗn hợp phải thấp hơn điểm chảy của tủa ít nhất là 20 °C (Phụ lục 6.7).

D. Thêm 5 ml *nước* vào 5 ml *dung dịch S*. *Dung dịch* này cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd* (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng *dung môi*.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,2 ml *dung dịch đỏ methyl* (TT) và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M* (CĐ) vào 10 ml *dung dịch S*. *Dung dịch* này màu vàng. Thêm 0,3 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (CĐ), *dung dịch* chuyển sang đỏ.

Tạp chất B

Không được quá 10 phần triệu đối với chế phẩm không dùng pha tiêm.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong hỗn hợp *acetonitril - nước* (20 : 80) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng hỗn hợp *dung môi*.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 thể tích *acetonitril* (TT) và 80 thể tích *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng hỗn hợp *dung môi*.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 0,5 ml *dung dịch thử (1)* thành 100,0 ml bằng hỗn hợp *acetonitril - nước* (20 : 80).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg tạp chất A (*1-methyl-4-phenylpiperidin*) trong hỗn hợp *acetonitril - nước* (20 : 80) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng hỗn hợp *dung môi*.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 12,5 mg tạp chất B (*1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 tetrahydropyridin*) trong hỗn hợp *acetonitril - nước* (20 : 80) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng hỗn hợp *dung môi*. Pha loãng 1,0 ml *dung dịch* thu được thành 100,0 ml bằng hỗn hợp *acetonitril - nước* (20 : 80).

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 5,0 ml *dung dịch đối chiếu (2)* và 1,0 ml *dung dịch đối chiếu (3)* thành 100,0 ml bằng hỗn hợp *acetonitril - nước* (20 : 80).

Pha động A. Hỗn hợp đồng thể tích *dung dịch natri peclorat 4,2 %* và *dung dịch acid phosphoric 1,16 %*, điều chỉnh pH tới 2,0 bằng *triethylamin* (TT).

Pha động B: *Acetonitril* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4,0 mm) được nhồi *spherical end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 μm) với diện tích bề mặt 340 m²/g, kích thước lỗ 10 nm và chứa 19 % carbon.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.

Thể tích tiêm: 50 μl

Cách tiến hành:

Tiến hành chạy sắc ký theo chương trình ghi ở bảng sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	80 - 75	20 - 25
15 - 31	75 - 55	25 - 45
31 - 40	55	45
40 - 41	55 - 80	45 - 20
41 - 50	80	20

Tiêm *dung dịch thử (2)* và *dung dịch đối chiếu (4)*.

Thời gian lưu tương đối so với pethidin (khoảng 24 phút) của tạp chất B khoảng 0,66, tạp chất A khoảng 0,68.

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của *dung dịch đối chiếu (4)*:

Tỷ lệ tín hiệu - nhiễu: Tối thiểu 10 cho pic đầu tiên.

Tỷ lệ đỉnh - hõm: Tối thiểu là 4 trong đó H_p = chiều cao của pic tạp chất B và H_o = chiều cao của điểm thấp nhất trên đường cong tách pic này từ tạp chất A.

Trên sắc ký đồ của *dung dịch thử (2)* diện tích pic tương ứng với tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trong *dung dịch đối chiếu (4)*.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Tiến hành như trong phần thử tạp chất B với những thay đổi:

Tiêm 20 μl *dung dịch thử (1)* và *dung dịch đối chiếu (1)*.

Trên sắc ký đồ của *dung dịch thử (1)*, diện tích pic của bất kỳ tạp chất nào không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của *dung dịch đối chiếu (1)* (0,5 %).

Tổng diện tích pic của các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của *dung dịch đối chiếu (1)* (1,0 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của *dung dịch đối chiếu (1)* (0,05 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,220 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol* (TT), thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo thế (Phụ lục 10.2). Đọc thế tích giữa 2 điểm. 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ) tương đương với 28,38 mg $C_{15}H_{21}NO_2.HCl$.

Bảo quản

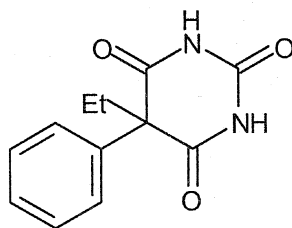
Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc giảm đau.

PHENOBARBITAL

Phenobarbitalum



$C_{12}H_{12}N_2O_3$

P.t.l: 232,2

Phenobarbital là acid 5-ethyl-5-phenylbarbituric, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{12}N_2O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng, không mùi.

Rất khó tan trong nước, hơi tan trong cloroform, tan trong ether, dễ tan trong *ethanol* 96 %. Tạo thành hợp chất tan trong nước với hydroxyd, carbonat kiềm và với amoniac.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Xác định điểm chảy (Phụ lục 6.7) của chế phẩm và của hỗn hợp đồng lượng chế phẩm với phenobarbital chuẩn. Điểm chảy của chế phẩm và của hỗn hợp phải ở khoảng 176 °C. Sự khác biệt về điểm chảy của 2 mẫu trên không được quá 2 °C.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của phenobarbital chuẩn.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Là lớp dưới của hỗn hợp gồm amoniac đậm đặc - *ethanol* 96 % - cloroform (5 : 15 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,1 g phenobarbital chuẩn trong *ethanol* 96 % (TT) pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 18 cm. Quan sát ngay bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính của sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính của sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu.

D. Phản ứng đặc trưng của barbiturat có hydro ở nhóm NH không bị thay thế (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 4 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT) và 6 ml nước. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V₆ (Phụ lục 9.3 phương pháp 2).

Giới hạn acid

Đun sôi 1,0 g chế phẩm với 50 ml nước trong 2 phút, để nguội rồi lọc. Thêm 0,15 ml *dung dịch đỏ methyl* (TT) vào 10,0 ml dịch lọc, dung dịch có màu vàng cam. Để chuyển sang màu vàng, thể tích dung dịch *natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ) sử dụng không được quá 0,1 ml.

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,5 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Là lớp dưới của hỗn hợp amoniac đậm đặc - *ethanol* 96 % - cloroform (5 : 15 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng *ethanol* 96 % (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Quan sát ngay bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, phun thuốc thử diphenylcarbazon thủy ngân (TT). Để khô bản mỏng ngoài không khí, phun *dung dịch kali hydroxyd trong ethanol* (TT) vừa mới pha. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 5 phút, quan sát ngay tức khắc. Khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại và sau khi phun thuốc thử, bất cứ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 2 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 5 ml *pyridin* (TT), thêm 0,5 ml *dung dịch thymolphthalein* (TT) và 10 ml *dung dịch bạc nitrat 8,5 % trong pyridin* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol* (CĐ) đến khi có màu xanh lam hoàn toàn. Song song làm mẫu trắng.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol* (CĐ) tương đương với 11,61 mg $C_{12}H_{12}N_2O_3$.

Bảo quản

Trong chai lọ kín.

Loại thuốc

An thần, chống co giật.

Chế phẩm

Cồn thuốc, viên nén.

VIÊN NÉN PHENOBARBITAL***Tabellae Phenobarbitali*****Viên nén Gardenal, Luminal**

Là viên nén chứa phenobarbital.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng phenobarbital, $C_{12}H_{12}N_2O_3$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương ứng khoảng 60 mg phenobarbital lắc với 50 ml *cloroform* (TT) và lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô rồi sấy khô ở 105 °C trong 2 giờ. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn phải phù hợp với phổ hồng ngoại của phenobarbital chuẩn.

B. Trong phần định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic phenobarbital trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc đến nồng độ thích hợp bằng *đệm borat pH 9,6* (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 240 nm. So sánh với dung dịch chuẩn có nồng độ phenobarbital tương đương dung dịch thử pha trong cùng dung môi. Tính hàm lượng phenobarbital hòa tan dựa vào các độ hấp thụ đo được và nồng độ phenobarbital trong dung dịch chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng phenobarbital so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm pH 4,5: Hòa tan 6,6 g *natri acetat* (TT) và 3,0 ml *acid acetic băng* (TT) trong 1000 ml nước, điều chỉnh đến pH $4,5 \pm 0,1$ bằng *acid acetic băng* (TT).

Pha động: *Dung dịch đệm pH 4,5 - methanol* (3 : 2).

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan cafein chuẩn trong hỗn hợp đồng thể tích *methanol* (TT) và *dung dịch đệm pH 4,5* để có nồng độ cafein khoảng 125 µg/ml.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chính xác khoảng 20,0 mg phenobarbital chuẩn trong 15,0 ml dung dịch chuẩn nội, lắc siêu âm nếu cần, lọc.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg phenobarbital, thêm 15,0 ml dung dịch chuẩn nội, lắc siêu âm trong 15 phút, lọc.

Điều kiện sắc ký: Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm đến 10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ phân giải giữa pic phenobarbital và chất chuẩn nội không được nhỏ hơn 1,2; hệ số đối xứng của pic phenobarbital và pic chuẩn nội không được lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic đáp ứng từ các lần tiêm lặp lại không được quá 2,0 %. Thời gian lưu tương đối của cafein khoảng 0,6 và của phenobarbital là 1,0. Có thể điều chỉnh tỷ lệ pha động để đạt điều kiện trên.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng phenobarbital, $C_{12}H_{12}N_2O_3$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{12}H_{12}N_2O_3$ trong phenobarbital chuẩn.

Bảo quản

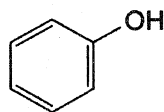
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống co giật và an thần, gây ngủ.

Hàm lượng thường dùng

10 mg, 50 mg, 100 mg.

PHENOL**Phenolum**C₆H₆O

P.t.l: 94,1

Phenol phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % C₆H₆O.**Tính chất**

Tinh thể hoặc khối kết tinh không màu hay màu hồng nhạt hoặc vàng nhạt, có mùi đặc trưng, dễ chảy lỏng. Tan trong nước, rất tan trong dicloromethan, ethanol 96 % và glycerin.

Định tính

A. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 2 ml *dung dịch amoniac 13,5 M (TT)*, phải tan hoàn toàn. Pha loãng với nước thành 100 ml. Lấy 2 ml *dung dịch này*, thêm 0,05 ml *dung dịch natri hypoclorit (3 % Cl) (TT)* xuất hiện màu xanh và màu này đậm dần.

B. Lấy 1 ml *dung dịch S*, thêm 10 ml nước và 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, xuất hiện màu tím và màu này mất đi khi thêm 5 ml *propan-2-ol (TT)*.

C. Lấy 1 ml *dung dịch S*, thêm 10 ml nước và 1 ml *nước brom (TT)* sẽ có tủa màu vàng nhạt.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 15 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu N₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Thêm 0,05 ml *dung dịch da cam methyl (TT)* vào 2 ml *dung dịch S*. *Dung dịch* phải có màu vàng.

Điểm đông đặc

Không được dưới 39,5 °C (Phụ lục 6.6).

Cẩn sau khi bay hơi

Không được quá 0,05 %.

Lấy 5,000 g chế phẩm làm bay hơi đến khô trên cách thủy và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 1 giờ.

Định lượng

Hòa tan 2,000 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 1000,0 ml bằng cùng dung môi. Chuyển 25,0 ml *dung dịch này* vào 1 bình thủy tinh có nút mài. Thêm 50,0 ml *dung dịch brom 0,1 N (CĐ)* và 5 ml *acid hydrocloric (TT)*. Đậy bình và để 30 phút (thỉnh thoảng lắc), sau đó để yên 15 phút nữa. Thêm 5 ml *dung dịch kali iodid 20 % (TT)*, lắc và chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* cho đến màu

vàng nhạt. Thêm 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và 10 ml *cloroform (TT)*, tiếp tục vừa chuẩn độ vừa lắc mạnh.

Song song làm mẫu trắng.

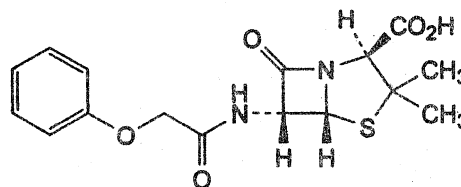
1 ml *dung dịch brom 0,1 N (CĐ)* tương đương với 1,569 mg C₆H₆O.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Sát trùng, bảo quản chống nhiễm khuẩn, chống ngứa.

PHENOXYMETHYLPENICILIN**Phenoxymethylpenicillinum**C₁₆H₁₈N₂O₅S

P.t.l: 350,4

Phenoxymethylpenicillin là acid (2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-6-[(phenoxyacetyl)amino]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic, được sản xuất bằng cách nuôi cấy chủng *Penicillium notatum* hoặc các chủng cùng họ trong môi trường có chứa tiền chất thích hợp, hay bằng các phương pháp khác. Tổng hàm lượng của phenoxymethylpenicillin và 4-hydroxyphenoxymethylpenicillin phải từ 95,0 % đến 100,5 %, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, hơi hút ẩm. Rất khó tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của phenoxymethylpenicillin chuẩn.

B. Chế phẩm phải đạt chỉ tiêu pH.

C. Tiến hành sắc ký lớp mỏng theo định tính các penicilin (Phụ lục 8.2).

D. Phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).

pH

Từ 2,4 đến 4,0 (Phụ lục 6.2)

Lắc 50 mg chế phẩm trong 10 ml nước không có carbon dioxide (TT) để tạo thành hỗn dịch.

Góc quay cực riêng

Từ +186° đến +200° tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *butanol* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Không được quá 1,0 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Điều kiện sắc ký, dung môi pha mẫu và các dung dịch đối chiếu: Giống như ở phần Định lượng.

Dung dịch thử: Chuẩn bị ngay trước khi dùng. Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Tiêm dung dịch đối chiếu (4), tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động giống như phần định lượng cho đến khi pic của phenoxymethylpenicilin được rửa giải ra khỏi cột. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống để thu được tỷ lệ tín hiệu/độ nhiễu ít nhất bằng 3. Tiêm dung dịch đối chiếu (5). Tiêm dung dịch thử, đặt chương trình pha động sao cho ban đầu rửa giải với pha động đẳng dòng giống như trên. Sau khi phenoxymethylpenicilin được rửa giải ra khỏi cột, ngay lập tức thay đổi tỷ lệ pha động theo chương trình sau:

Thời gian (min)	Pha động A (%) (tt/tt)	Pha động B (%) (tt/tt)	Ghi chú
0 - 20	60 → 0	40 → 100	Gradient tuyến tính
20 - 35	0	100	Đẳng dòng
35 - 50	0 → 60	100 → 40	Cân bằng cột

Tiêm dung môi pha mẫu, tiến hành sắc ký giống như với dung dịch thử để thu được sắc ký đồ mẫu trắng. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào, trừ các pic tương ứng với mẫu trắng và pic của 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin, không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (5).

4-Hydroxyphenoxymethylpenicilin

Không được quá 4,0 %, tính theo chế phẩm khan.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3) ở phần định lượng.

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,000 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm acetat pH 3,5: Hòa tan 25 g *amoni acetat* (TT) trong 25 ml nước, thêm 38 ml *dung dịch acid hydrocloric 7 M* (TT). Điều chỉnh pH đến 3,5 bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M* (TT) hoặc *dung dịch amoniac 6 M* (TT).

Pha động A: Dung dịch đệm acetat pH 3,5 - *methanol* - nước (10 : 30 : 60).

Pha động B: Dung dịch đệm acetat pH 3,5 - nước - *methanol* (10 : 35 : 55).

Dung môi pha mẫu: Thêm 500 ml nước vào 250 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M* (TT), lắc đều. Điều chỉnh pH đến 6,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,84 %* (TT) và pha loãng thành 1000 ml với nước.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 55,0 mg phenoxymethylpenicilin kali chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4,0 mg 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg phenoxymethylpenicilin kali chuẩn và 10 mg benzylpenicilin natri chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20 ml với dung môi pha mẫu. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50 ml với dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 25,0 ml với dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Cân bằng cột với pha động là hỗn hợp pha động A và pha động B (60 : 40). Tiêm dung dịch đối chiếu (3). Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic chính ít nhất phải bằng 6,0 (điều chỉnh tỷ lệ giữa pha động A và pha động B nếu cần thiết) và tỷ số phân bố khối lượng (D_m) của pic thứ hai (phenoxymethylpenicilin) phải từ 5,0 đến 7,0. Tiêm riêng biệt dung dịch đối chiếu (1) sáu lần, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic không được lớn hơn 1,0 %.

Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2).

Tính hàm lượng phenoxymethylpenicilin và 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin dựa vào diện tích pic đáp ứng. Nồng độ phenoxymethylpenicilin trong dung dịch chuẩn bằng nồng độ phenoxymethylpenicilin kali nhân với 0,902.

Bảo quản

Bao bì kín.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN PENICILIN V***Tabellae Phenoxymethylpenicillini***

Là viên nén chứa phenoxymethylpenicilin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng hoặc trắng ngà, không mùi hoặc có mùi đặc biệt của penicilin.

Định tính

A. Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với 80 mg phenoxymethylpenicilin với 5 ml *methanol* (TT) trong bình định mức 250 ml, thêm *nước* đến định mức, trộn đều, lọc. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dịch lọc phải có các cực đại ở các bước sóng 268 nm và 274 nm, cực tiểu ở bước sóng 272 nm.

B. Trong phần định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic penicilin V trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4).

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ thích hợp (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được ở cực đại 268 nm, trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch phenoxymethylpenicilin kali chuẩn có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan. Tính lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, được hòa tan trong viên dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ trong phenoxymethylpenicilin kali chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: *Nước* - *acetonitril* - *acid acetic* bằng (650 : 350 : 5,75).

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 2,5 mg benzylpenicilin kali và 2,5 mg phenoxymethylpenicilin kali trong 1 ml, pha trong pha động.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch phenoxymethylpenicilin kali chuẩn có nồng độ khoảng 2,5 mg/ml, pha trong pha động.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 400 000 đơn vị phenoxymethylpenicilin hòa trong pha động vừa đủ 100,0 ml, lắc kỹ trong 5 phút, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (30 cm × 4 mm), được nhồi pha tĩnh C (3 μm đến 10 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của pic benzylpenicilin khoảng 0,8 và của pic phenoxymethylpenicilin là 1,0. Hiệu năng của cột xác định trên pic phenoxymethylpenicilin không được ít hơn 1800 đĩa lý thuyết, hệ số phân giải giữa pic benzylpenicilin và pic phenoxymethylpenicilin không được ít hơn 3,0.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic phenoxymethylpenicilin trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 1,0 %. Có thể điều chỉnh tỷ lệ pha động để đạt điều kiện trên.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ trong phenoxymethylpenicilin chuẩn.

Hoạt lực lý thuyết của phenoxymethylpenicilin là 1695 IU trong 1 mg.

Hoạt lực lý thuyết của phenoxymethylpenicilin kali là 1530 IU trong 1 mg.

Bảo quản

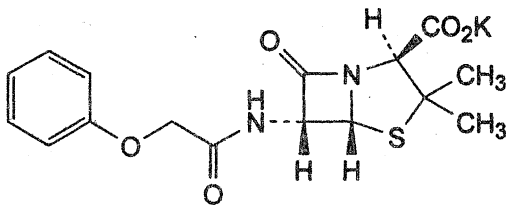
Tránh ẩm và ánh sáng, để ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

200 000 đơn vị (IU); 400 000 đơn vị (IU).

PHENOXYMETHYLPENICILIN KALI*Phenoxymethylpenicillinum kalicum* $C_{16}H_{17}KN_2O_5S$

P.t.l: 388,5

Phenoxymethylpenicilin kali là muối kali của acid (2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-6-[(phenoxycetyl)-amino]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic, được sản xuất bằng cách nuôi cấy chủng *Penicillium notatum* hoặc các chủng cùng họ trong môi trường có chứa tiền chất thích hợp, hay bằng các phương pháp khác. Tổng hàm lượng của phenoxymethylpenicilin kali và 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin kali phải từ 95,0 % đến 100,5 %, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của phenoxymethylpenicilin kali chuẩn.

B. Tiến hành sắc ký lớp mỏng theo định tính các penicilin (Phụ lục 8.2).

C. Phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).

D. Chế phẩm cho phản ứng (A) của ion kali (Phụ lục 8.1)

pH

Từ 5,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2)

Hòa tan 100 mg chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng

Từ +215° đến +230° tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Không được quá 1,0 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Điều kiện sắc ký, dung môi pha mẫu và các dung dịch đối chiếu: Giống như ở phần Định lượng.

Dung dịch thử: Chuẩn bị ngay trước khi dùng. Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Tiêm dung dịch đối chiếu (4), tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động giống như phần định lượng cho đến khi pic của phenoxymethylpenicilin được rửa giải ra khỏi cột. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống để thu được tỷ lệ tín hiệu/độ nhiễu ít nhất bằng 3. Tiêm dung dịch đối chiếu (5). Tiêm dung dịch thử, đặt chương trình pha động sao cho ban đầu rửa giải với pha động đẳng dòng giống như trên. Sau khi phenoxymethylpenicilin được rửa giải ra khỏi cột, ngay lập tức thay đổi tỷ lệ pha động theo chương trình sau:

Thời gian (min)	Pha động A (%) (tt/tt)	Pha động B (%) (tt/tt)	Ghi chú
0 - 20	60 → 0	40 → 100	Gradient tuyến tính Đẳng dòng Cân bằng cột
20 - 35	0	100	
35 - 50	0 → 60	100 → 40	

Tiêm dung môi pha mẫu, tiến hành sắc ký giống như với dung dịch thử để thu được sắc ký đồ mẫu trắng. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào, trừ các pic chính và pic của 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin, không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (5).

4-Hydroxyphenoxymethylpenicilin kali

Không được quá 4,0 %, tính theo chế phẩm khan.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) ở phần Định lượng.

Nước

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,000 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm acetat pH 3,5: Hòa tan 25 g amoni acetat (TT) trong 25 ml nước, thêm 38 ml dung dịch acid hydrocloric 7 M (TT). Điều chỉnh pH đến 3,5 bằng dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT) hoặc dung dịch amoniac 6 M (TT).

Pha động A: Dung dịch đệm acetat pH 3,5 - methanol - nước (10 : 30 : 60).

Pha động B: Dung dịch đệm acetat pH 3,5 - nước - methanol (10 : 35 : 55).

Dung môi pha mẫu: Thêm 500 ml nước vào 250 ml dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT), lắc đều. Điều chỉnh pH đến 6,5 bằng dung dịch natri hydroxyd 0,84 % (TT) và pha loãng thành 1000 ml với nước.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg phenoxymethylpenicilin kali chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4,0 mg 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg phenoxymethylpenicilin kali chuẩn và 10 mg benzyl-penicilin natri chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20 ml với dung môi pha mẫu. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50 ml với dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 25,0 ml với dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành: Cân bằng cột với pha động là hỗn hợp pha động A và pha động B (60 : 40). Tiêm dung dịch đối chiếu (3). Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic chính ít nhất phải bằng 6,0 (điều chỉnh tỷ lệ giữa pha động A và pha động B nếu cần thiết) và tỷ số phân bố khối lượng (D_m) của pic thứ hai (phenoxymethylpenicilin) phải từ 5,0 đến 7,0. Tiêm riêng biệt dung dịch đối chiếu (1) sáu lần, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic không được lớn hơn 1,0 %.

Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2).

Tính hàm lượng phenoxymethylpenicilin kali và 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin dựa vào diện tích pic đáp ứng.

Hàm lượng 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin kali bằng hàm lượng 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin nhân với hệ số hiệu chỉnh được cung cấp kèm theo chất đối chiếu.

Bảo quản

Bao bì kín.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nén, bột pha hỗn dịch uống.

VIÊN NÉN PENICILIN V KALI

Tabellae Phenoxymethylpenicillini Kalii

Là viên nén chứa phenoxymethylpenicilin kali.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng hoặc trắng ngà, không mùi hoặc có mùi đặc biệt của penicilin.

Định tính

A. Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với khoảng 80 mg phenoxymethylpenicilin với khoảng 200 ml nước trong bình định mức 250 ml, thêm nước đến định mức, trộn đều, lọc. Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được phải có cực đại ở các bước sóng 268 nm và 274 nm, cực tiểu ở bước sóng 272 nm.

B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic phenoxymethylpenicilin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

C. Đốt 0,5 g bột viên, rồi nung đến gần tro màu trắng. Để nguội, thêm vào cần 5 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT). Đun sôi, để nguội, lọc. Dịch lọc phải cho phản ứng B của ion kali (Phụ lục 8.1).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.6).

(Dùng 0,5 g bột viên đã nghiền mịn, sấy 3 giờ trong chân không, ở 60 °C).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml đệm phosphat chuẩn pH 6,0 (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 phút.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ thích hợp (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở cực đại 268 nm, trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch phenoxymethylpenicilin kali chuẩn có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan. Tính lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, được hòa tan trong viên dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ trong mẫu chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - acetonitril - acid acetic băng (650 : 350 : 5,75).

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 2,5 mg benzylpenicilin kali và 2,5 mg phenoxymethylpenicilin kali trong 1 ml, pha trong pha động.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch phenoxymethylpenicilin kali chuẩn có nồng độ khoảng 2,5 mg/ml, pha trong pha động.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 400 000 đơn vị phenoxymethylpenicilin hòa trong pha động vừa đủ 100,0 ml, lắc kỹ trong 5 phút, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (30 cm × 4 mm), được nhồi pha tĩnh C (3 μm đến 10 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của pic benzylpenicilin khoảng 0,8 và của pic phenoxymethylpenicilin là 1,0. Hiệu năng của cột xác định trên pic phenoxymethylpenicilin không được ít hơn 1800 đĩa lý thuyết, hệ số phân giải giữa pic benzylpenicilin và pic phenoxymethylpenicilin không được ít hơn 3,0.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic phenoxymethylpenicilin trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 1,0 %. Có thể điều chỉnh tỷ lệ pha động để đạt các điều kiện trên.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ trong phenoxymethylpenicilin kali chuẩn.

Hoạt lực lý thuyết của phenoxymethylpenicilin là 1695 IU trong 1 mg.

Hoạt lực lý thuyết của phenoxymethylpenicilin kali là 1530 IU trong 1 mg.

Bảo quản

Tránh ẩm và ánh sáng, để ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

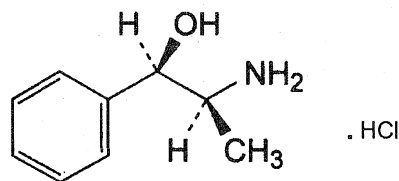
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

200 000 đơn vị (IU); 400 000 đơn vị (IU).

PHENYLPROPANOLAMIN HYDROCLORID

Phenylpropanolamini hydrochloridum



và đồng phân đối quang

$C_9H_{13}NO.HCl$

P.t.l: 187,7

Phenylpropanolamin hydroclorid là (1*RS*,2*SR*)-2-amino-1-phenylpropan-1-ol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,5 % $C_9H_{13}NO.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng. Dễ tan trong nước và ethanol 96 %, thực tế không tan trong dicloromethan.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của phenylpropanolamin hydroclorid chuẩn. Xác định dưới dạng đĩa nén không cần kết tinh lại.

B. Điểm chảy từ 194 °C đến 197 °C (Phụ lục 6.7).

C. Quan sát sắc ký đồ thu được ở phép thử Tạp chất liên quan. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải phù hợp về vị trí, màu và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

D. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml nước, thêm 0,2 ml *dung dịch đồng sulfat 12,5 % (TT)* và 0,3 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, xuất hiện màu tím. Thêm 2 ml *ether (TT)* và lắc, có tủa màu tím tạo thành giữa 2 lớp dung dịch.

E. Chế phẩm phải cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CD)* vào 10 ml dung dịch S, dung dịch có màu vàng. Thêm 0,4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CD)*, dung dịch có màu đỏ.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel H*.

Dung môi khai triển: *Amoniac - ethanol 96 % - butanol (6 : 24 : 70)*.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg phenylpropanolamin hydroclorid chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20 mg norpseudoephedrin hydroclorid chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)*, thêm 1 ml dung dịch thử (1) và pha loãng thành 10 ml bằng *ethanol 96 %*.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 60 mg *amoni clorid (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Trước khi chấm sắc ký, phun lên bản mỏng *dung dịch natri tetraborat 2 %* (8 ml cho bản mỏng kích thước 10 cm × 20 cm). Để khô bản mỏng dưới một luồng khí lạnh trong 30 phút. Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên thành dải có kích thước 10 mm × 3 mm. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Sấy khô bản mỏng dưới một luồng khí ẩm đến khi dung môi bay hết, để nguội. Phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % trong ethanol 96 %* và sấy bản mỏng ở 110 °C trong 15 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào, ngoài vết chính và vết tương ứng với amoni clorid, không được đậm hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho 2 vết tách rõ rệt.

Phenylpropanolamin

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 283 nm không được lớn hơn 0,10.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4).

Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6). (1,000 g, 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2). Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,1500 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* thêm vào giữa hai điểm uốn.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 18,77 mg $C_9H_{13}NO \cdot HCl$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

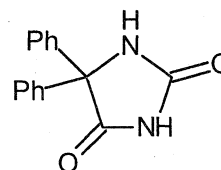
Thuốc giống thần kinh giao cảm.

Chế phẩm

Viên nén, nang phối hợp.

PHENYTOIN

Phenytoinum



$C_{15}H_{12}N_2O_2$

P.t.l: 252,3

Phenytoin là 5,5-diphenylimidazolidin-2, 4-dion, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{15}H_{12}N_2O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, không mùi hoặc gần như không mùi.

Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, khó tan trong cloroform và ether. Rất khó tan trong methylen clorid. Tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của phenytoin chuẩn.

B. Trong mục thử "Tập chất liên quan", vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải có vị trí và kích thước giống với vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1).

C. Cho vào 10 mg chế phẩm 1 ml nước và 0,05 ml *amoniac (TT)*. Đun đến sôi, thêm 0,05 ml *dung dịch đồng sulfat 5 %* trong *dung dịch amoniac 2 M (TT)* và lắc đều. Tủa kết tinh màu hồng xuất hiện.

D. Phải đáp ứng các yêu cầu của phép thử Tro sulfat.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch của 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml nước và 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M* phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 45 ml nước vào 1,0 g chế phẩm, đun sôi khoảng 2 phút, để nguội và lọc. Rửa phễu lọc bằng nước không có carbon dioxyl (TT). Pha loãng dịch lọc và nước rửa phễu lọc bằng nước không có carbon dioxyl (TT) thành 50 ml. Lấy 10 ml dung dịch thu được và thêm 0,15 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*, màu của chỉ thị phải chuyển sang màu đỏ khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)*. Lấy 10 ml dung dịch thu được và thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*, màu của chỉ thị phải chuyển sang màu xanh lam khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)*.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄ (TT). Trước khi dùng, rửa bản mỏng bằng hỗn hợp gồm 30 ml dioxan (TT) và 75 ml hexan (TT). Để bản mỏng khô ngoài không khí. *Dung môi khai triển*: Dioxan - hexan (30 : 75).

Dung môi hòa tan mẫu: Hỗn hợp đồng thể tích của acetone (TT) và methanol (TT).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,40 g chế phẩm trong dung môi hòa tan mẫu và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 20 ml bằng dung môi hòa tan mẫu.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg phenytoin chuẩn trong dung môi hòa tan mẫu và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 8 mg benzophenon (TT) trong dung môi hòa tan mẫu và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 8 mg benzil (TT) trong dung môi hòa tan mẫu pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng dung môi hòa tan mẫu.

Dung dịch đối chiếu (5): Trộn đều 1 ml dung dịch đối chiếu (2) và 1 ml dung dịch đối chiếu (3).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên, dùng luồng khí lạnh để làm khô bản mỏng trong khoảng 2 phút. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) các vết tương ứng với vết của benzophenon và benzil không được đậm màu hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) và (3) (0,2 %), các vết phụ

khác trừ vết chính và vết tương ứng với benzophenon và benzil không được đậm màu hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (1 %). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (5) cho thấy 2 vết tách rõ ràng.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 2,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 50 ml *dimethyl formamid (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri methoxyd 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch natri methoxyd 0,1 M (CĐ)* tương đương với 25,23 mg C₁₅H₁₂N₂O₂.

Bảo quản

Đựng trong bình kín.

VIÊN NÉN PHENYTOIN**Tabellae Phenytoini**

Là viên nén hay viên nén bao phim chứa phenytoin natri.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng phenytoin natri, C₁₅H₁₁N₂NaO₂, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng, hay viên bao màu đồng nhất.

Định tính

A. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g phenytoin natri, thêm 10 ml nước (TT), lắc trong 10 phút, lọc (dịch lọc A). Lấy 2 ml dịch lọc A, thêm vài giọt *dung dịch thủy ngân (II) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện tủa trắng không tan trong *dung dịch amoniac 10 % (TT)*.

B. Lấy 0,5 ml dịch lọc A, cho bay hơi đến khô. Cân thu được cho phản ứng ngọn lửa của ion natri (Phụ lục 8.1).

C. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) về vị trí, màu sắc và kích thước.

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Propan-2-ol - cloroform - amoniac 13,5 M (45 : 45 : 10).

Dung dịch thử (1): Lắc kỹ một lượng bột viên chứa 0,2 g phenytoin natri với 5 ml methanol (TT) làm ẩm trên cách thủy, lắc và lọc. Sử dụng dịch lọc.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml với methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch benzophenon chuẩn 0,020 % trong methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Dung dịch phenytoin natri chuẩn 0,4 % trong methanol (TT).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên, làm khô các vết bằng luồng không khí lạnh trong 2 phút. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, sấy khô ở 80 °C trong 5 phút và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào tương ứng với benzophenon không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %) và bất kỳ vết phụ nào khác không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 500 ml nước.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, loại bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc ở bước sóng 258 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng nước làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch phenytoin natri chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 0,2 mg/ml. Tính hàm lượng phenytoin natri, C₁₅H₁₁N₂NaO₂, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ C₁₅H₁₁N₂NaO₂ của dung dịch chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng phenytoin natri so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Cân 20 viên (đã loại bỏ lớp vỏ bao, nếu là viên bao), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,3 g phenytoin natri vào bình gạn, thêm 25 ml nước (TT), lắc trong 10 phút. Thêm 50 ml ether

(TT) và 10 giọt dung dịch xanh bromophenol (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CD), lắc mạnh, cho đến khi lớp nước có màu xám lam. Chuyển lớp nước vào bình nón nút mài, rửa lớp ether với 5 ml nước. Gộp dịch rửa vào lớp nước trong bình nón, thêm 20 ml ether (TT), tiếp tục chuẩn độ với dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CD), lắc mạnh, cho đến khi lớp nước có màu lục nhạt.

1 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CD) tương đương với 27,43 mg C₁₅H₁₁N₂NaO₂.

Bảo quản

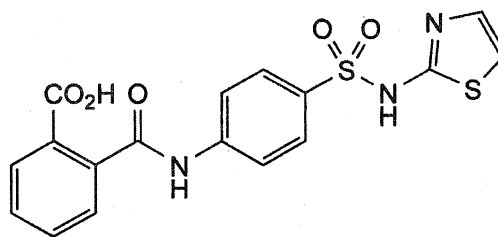
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống động kinh.

Hàm lượng thường dùng

50 mg; 100 mg.

PHTHALYLSULFATHIAZOL**Phthalylsulfathiazolum**

C₁₇H₁₃N₃O₅S₂

P.t.l: 403,4

Phthalylsulfathiazol là acid 2-[[4-(thiazol-2-ylsulphamoyl)phenyl]carbamoyl]benzoic, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % C₁₇H₁₃N₃O₅S₂, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc trắng ánh vàng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong dimethylformamid, khó tan trong aceton và ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của phthalylsulfathiazol chuẩn.

B. Lấy 1 g chế phẩm, thêm 8,5 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), đun sôi hồi lưu trong 30 phút. Để nguội, thêm 17,5 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT). Lắc mạnh và lọc. Trung hòa dịch lọc bằng dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT). Lọc, rửa tủa bằng nước. Kết tinh lại tủa trong nước và sấy khô tinh

thể ở 100 °C đến 105 °C. Nhiệt độ nóng chảy của tinh thể thu được từ 200 °C đến 203 °C (Phụ lục 6.7).

C. Lấy 0,1 g chế phẩm cho vào một ống nghiệm, thêm 3 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và 0,5 g *bột kẽm (TT)*. Khí được tạo thành làm đen *giấy tẩm chì (II) acetat (TT)*.

D. Lấy khoảng 0,1 g chế phẩm, thêm 0,5 g *resorcinol (TT)* và 0,3 ml *acid sulfuric (TT)*, đun nóng trên cách thủy cho đến khi hỗn hợp đồng nhất. Để nguội, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, lắc đều, hỗn hợp có màu đỏ nâu. Pha loãng 0,1 ml hỗn hợp thu được thành 25 ml với *nước*. Dung dịch có huỳnh quang xanh lục đậm, mất đi khi acid hóa dung dịch.

E. Hòa tan khoảng 10 mg tinh thể thu được từ phản ứng định tính B trong 200 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)*. 2 ml dung dịch thu được cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1) với kết tủa màu cam.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VL₅ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Lấy 2,0 g chế phẩm, thêm 20 ml *nước*, lắc trong 30 phút và lọc. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị. Không được dùng quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD)* để làm chuyển màu của chỉ thị.

Sulfathiazol và các amin thơm bậc một

Hòa tan 5 mg chế phẩm trong hỗn hợp đã được làm lạnh đến 15 °C gồm 3,5 ml *nước*, 6 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)* và 25 ml *ethanol 96 % (TT)*. Nhúng ngay vào nước đá và thêm 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,25 %*. Để yên 3 phút, thêm 2,5 ml *dung dịch acid sulphamic 4 %* và để yên trong 5 phút. Thêm 1 ml *dung dịch naphthylethylendiamin dihydroclorid 0,4 %* và pha loãng thành 50 ml với *nước*, thu được dung dịch thử.

Song song chuẩn bị dung dịch chuẩn: Lấy 1 ml dung dịch có chứa 10 mg *sulfathiazol chuẩn (ĐC)* và 0,5 ml *acid hydrochloric (TT)* trong 100 ml; thêm 2,5 ml *nước*, 6 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)* và 25 ml với *ethanol 96 % (TT)*. Tiến hành tương tự như với dung dịch thử.

Độ hấp thụ ánh sáng tại bước sóng 550 nm (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch chuẩn.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 40 ml *dimethylformamid (TT)*, thêm 0,2 ml *dung dịch thymolphthalein (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD)* cho đến khi màu của chỉ thị chuyển sang màu xanh lam. Song song tiến hành mẫu trắng.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD)* tương đương với 20,17 mg C₁₇H₁₃N₃O₅S₂.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

VIÊN NÉN PHTHALYLSULFATHIAZOL

Tabellae Phthalylsulfathiazoli

Là viên nén chứa phthalylsulfathiazol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng phthalylsulfathiazol, C₁₇H₁₃N₃O₅S₂, từ 95,0 % đến 105,0 % so với hàm lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng, không mùi.

Định tính

Chiết một lượng bột viên tương ứng với 1,5 g phthalylsulfathiazol với 60 ml *aceton (TT)* nóng, lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô. Sấy cán ở 105 °C, dùng cán thu được để thử các phản ứng sau:

A. Cán thu được phải cho phản ứng D quy định trong phần định tính của chuyên luận "Phthalylsulfathiazol".

B. Lấy 1 g cán, thêm 8,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, đun sôi dưới sinh hàn hồi lưu trong 30 phút. Để nguội và thêm 17,5 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)*. Lắc kỹ và lọc. Trung hòa dịch lọc bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Lọc, rửa tủa bằng *nước*. Kết tinh lại bằng *nước* và sấy các tinh thể thu được ở 100 °C đến 105 °C. Hòa tan 10 mg tinh thể trong 200 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)*, 2 ml dung dịch thu được cho phản ứng định tính của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1) với tủa vàng hình thành.

C. Lấy 10 mg cân, thêm 20 mg *phenol* (TT) và 3 giọt *acid sulfuric đậm đặc* (TT), đun đến khi hỗn hợp có màu nâu. Để nguội, thêm 20 ml *nước* và kiểm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT), có màu hồng xuất hiện (phản ứng phân biệt với *suciny-l-sulfathiazol*).

Sulfathiazol

Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với 7,5 mg *phthalylsulfathiazol* trong một hỗn hợp gồm 25 ml *ethanol 96 %* (TT), 6 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT) và 3,5 ml *nước* đã được làm lạnh trước đến 15 °C rồi lọc. Làm lạnh ngay dịch lọc trong nước đá và thêm vào dịch lọc 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,25 %*, trộn đều và để yên trong 3 phút. Thêm 2,5 ml *dung dịch acid sulfamic 4 %*, để yên tiếp trong 5 phút. Thêm 1 ml *dung dịch N-(1-naphthyl) ethylendiamin dihydroclorid 0,4 %* và pha loãng đến vừa đủ 50 ml với *nước*. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở 550 nm không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị đồng thời, trong cùng điều kiện như sau: Dùng một hỗn hợp gồm 25 ml *ethanol 96 %* (TT), 2 ml *nước*, 6 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT) và 1,5 ml dung dịch được chuẩn bị bằng cách hòa tan 10 mg *sulfathiazol* và 0,5 ml *acid hydrochloric đậm đặc* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml. Làm lạnh ngay hỗn hợp thu được trong nước đá, thêm vào hỗn hợp 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,25 %*, trộn đều và để yên trong 3 phút. Tiến hành như trên, bắt đầu từ “Thêm 2,5 ml *dung dịch acid sulfamic 4 %*...”

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g *phthalylsulfathiazol*, cho vào một bình cầu nhỏ, thêm 20 ml *acid hydrochloric đậm đặc* (TT) và 10 ml *nước* rồi đun sôi dưới ống sinh hàn hồi lưu trong 1 giờ. Dùng 20 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT) chuyển toàn bộ lượng chất lỏng trong bình thủy phân sang một cốc dung tích 200 ml. Tiến hành chuẩn độ bằng *nitrit* (Phụ lục 10.4). 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M* (CĐ) tương đương với 40,34 mg $C_{17}H_{13}N_3O_5S_2$.

Bảo quản

Đựng trong chai lọ nút kín. Để nơi khô, mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

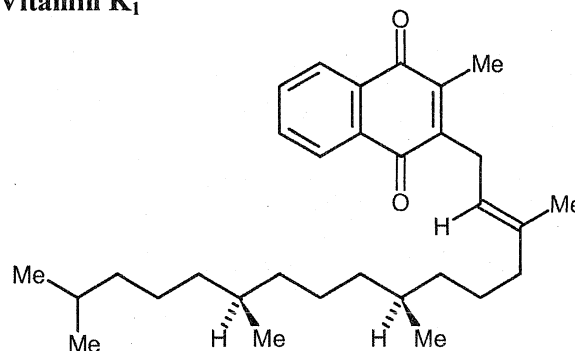
Hàm lượng thường dùng

500 mg.

PHYTOMENADION

Phytomenadionum

Vitamin K₁



$C_{31}H_{46}O_2$

P.t.l: 450,71

Phytomenadion là hỗn hợp của 2-methyl-3-[(2E)-(7R,11R)-3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-enyl]naphthalen-1,4-dion (*trans*-phytomenadion), 2-methyl-3-[(2Z)-(7R,11R)-3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-enyl]naphthalen-1,4-dion (*cis*-phyto menadion) và 2,3-epoxy-2-methyl-3-[(2E)-(7R,11R)-3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-enyl]-2,3-dihydronaphthalen-1,4-dion (*trans*-epoxyphytomenadion). Chứa không quá 4,0 % *trans*-epoxyphytomenadion và không ít hơn 75,0 % *trans*-phytomenadion. Tổng của 3 thành phần không được ít hơn 97,0 % và không được nhiều hơn 103,0 %.

Tính chất

Chất lỏng dạng dầu nhớt, trong và màu vàng hoặc vàng cam, không mùi.

Đễ tan trong ether, iso octan, cloroform và dầu béo.

Hơi tan trong ethanol 96 % và methanol, thực tế không tan trong nước. Nó bị phân hủy dần dần và bị sẫm màu do ánh sáng.

Chỉ số khúc xạ khoảng 1,526.

Định tính

Tiến hành nhanh chóng và tránh tác động của ánh sáng.

A. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong *trimethylpentan* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong vùng từ 275 nm đến 340 nm cho hấp thụ cực đại ở 327 nm và cực tiểu ở 285 nm. A (1 %; 1 cm) ở bước sóng cực đại phải từ 67 đến 73.

Pha loãng tiếp 10,0 ml dung dịch trên thành 50,0 ml với *trimethylpentan* (TT). Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch này trong vùng từ 230 nm đến 280 nm, cho 4 hấp thụ cực đại ở 243 nm, 249 nm, 261 nm và 270 nm.

B. Trong sắc ký đồ thử Menadion và các tạp chất liên quan khác: Vết chính của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính của dung dịch đối chiếu (1).

C. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 10 ml *methanol* (TT) và thêm 1 ml *dung dịch kali hydroxyd 20 %*

trong methanol, màu xanh lục xuất hiện và trở nên tím đỏ khi đun nóng trong cách thủy ở 40 °C và sau đó chuyển sang màu nâu đỏ.

Độ trong của dung dịch

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong trimethylpentan (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2).

Chỉ số acid

Không quá 2,0 (Phụ lục 7.2) (dùng 2,00 g chế phẩm).

Menadion và các tạp chất liên quan khác

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - toluen (20 : 80).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,40 g chế phẩm trong cyclohexan (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với cyclohexan (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40 mg phytomenadion chuẩn trong cyclohexan (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng cyclohexan (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 4,0 mg menadion (TT) trong cyclohexan (TT) và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí trong 5 phút. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm và phun dung dịch acid phosphomolybdic 10 % trong ethanol (TT). Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 5 phút.

Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1):

Bất cứ vết nào tương ứng menadion không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %); Bất cứ vết nào, khác vết chính và vết tương ứng với menadion, không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Bỏ qua bất cứ vết nào nằm dưới vết chính và không tách hoàn toàn khỏi vết chính.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Octanol - di-isopropyl ether - heptan (0,67 : 3,3 : 1000)

Dung dịch thử: Hòa tan 15,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 15,0 mg phytomenadion chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 15,0 mg phytomenadion chuẩn và 4,0 mg trans-epoxyphytomenadion chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ 0,25 m × 4,6 mm được nhồi spherical silica gel dùng cho sắc ký (5 µm) với lỗ xốp 8 nm.

Tốc độ dòng: 0,4 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 254 nm.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính ít nhất bằng 50 % của thang đo.

Phép thử chỉ có giá trị khi thứ tự rửa giải của các pic là trans-epoxyphytomenadion, cis-phytomenadion và trans-phytomenadion. Tiến hành tiêm dung dịch đối chiếu (1) 6 lần. Phép định lượng chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic đồng phân trans nhỏ hơn 1,0 % và độ phân giải giữa pic tương ứng với trans-phytomenadion và cis-phytomenadion ít nhất là 2,5. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1), tính toán nồng độ phần trăm của trans-phytomenadion, cis-phytomenadion và trans-epoxyphytomenadion theo các công thức sau:

$$\text{Trans-phytomenadion} = \frac{m' \times A'_{\text{trans}} \times S_{\text{trans}}}{m \times S'_{\text{trans}}}$$

$$\text{Cis-phytomenadion} = \frac{m' \times A'_{\text{cis}} \times S_{\text{cis}}}{m \times S'_{\text{cis}}}$$

$$\text{trans - epoxyphytomenadion} = \frac{m' \times A'_{\text{epoxy}} \times S_{\text{epoxy}}}{m \times S'_{\text{epoxy}}}$$

Trong đó:

m' là khối lượng (mg) chất chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1);

m là khối lượng (mg) chế phẩm trong dung dịch thử;

A'_{\text{trans}} là hàm lượng (%) trans-phytomenadion trong phytomenadion chuẩn;

A'_{\text{cis}} là hàm lượng (%) cis-phytomenadion trong phytomenadion chuẩn;

A'_{\text{epoxy}} là hàm lượng (%) trans - epoxyphytomenadion trong phytomenadion chuẩn;

S_{\text{trans}} là diện tích pic tương ứng với đồng phân trans trong sắc ký đồ của dung dịch thử;

S_{\text{cis}} là diện tích pic tương ứng với đồng phân cis trong sắc ký đồ của dung dịch thử;

S_{\text{epoxy}} là diện tích pic tương ứng với đồng phân trans epoxyphytomenadion - trong sắc ký đồ của dung dịch thử;

S'_{trans} là diện tích pic tương ứng với đồng phân *trans* trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1);

S'_{cis} là diện tích pic tương ứng với đồng phân *cis* trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1);

S'_{epoxy} là diện tích pic tương ứng với đồng phân *trans-epoxy* phytomenadion trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Tương tự vitamin K.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN PHYTOMENADION

Tabellae Phytomenadioni

Là viên nén nhai hay ngậm chứa phytomenadion.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng phytomenadion, $C_{31}H_{46}O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên có màu đồng nhất.

Định tính

Lắc một lượng bột viên tương ứng với 50 mg phytomenadion với 50 ml *ethanol* (TT), khoảng 1 giờ, để lắng. Lấy 5 ml dịch trong cho vào bình định mức 50 ml, thêm *ethanol* (TT) đến định mức, lắc đều (dung dịch A). Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch A trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm, phải có cực đại ở bước sóng 328 nm và cực tiểu ở bước sóng 292 nm.

Tiếp tục pha loãng một thể tích thích hợp dung dịch A với lượng *ethanol* (TT) vừa đủ để được dung dịch phytomenadion 0,001 %. Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm, phải có cực đại ở các bước sóng 245 nm, 249 nm, 263 nm và 271 nm, cực tiểu ở các bước sóng 256 nm và 266 nm.

Độ rã

Yêu cầu về độ rã không áp dụng cho viên nén phytomenadion.

Menadion

Không được quá 1,0 %

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: *Methanol - ether - cyclohexan* (1 : 20 : 80).

Dung dịch thử: Phân tán một lượng bột viên tương ứng với 50 mg phytomenadion trong 5 ml *ethanol* (TT) bằng cách lắc siêu âm khoảng 5 phút, thêm 15 ml 2,2,4-trimethylpentan (TT), lắc khoảng 1 phút, ly tâm và lấy lớp dung dịch trong ở trên.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 0,0025 % menadion trong 2,2,4-trimethylpentan (TT).

Cách tiến hành: Chấm 50 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất cứ vết phụ nào tương ứng với vết của menadion không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp nước - *ethanol* 96 % (5 : 95).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch phytomenadion chuẩn 0,01% trong pha động.

Dung dịch thử: Lấy 20 viên, loại bỏ lớp bao (nếu cần), cân tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg phytomenadion, thêm 5 ml *dung dịch amoniac 0,5 M* (TT), lắc siêu âm khoảng 5 phút. Thêm 90 ml *ethanol 96 %* (TT), lắc siêu âm khoảng 10 phút, lắc cơ học khoảng 10 phút và thêm *ethanol 96 %* (TT) vừa đủ 100,0 ml, ly tâm và lấy lớp dung dịch trong ở trên.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (20 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng phytomenadion, $C_{31}H_{46}O_2$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{31}H_{46}O_2$ của phytomenadion chuẩn.

Bảo quản

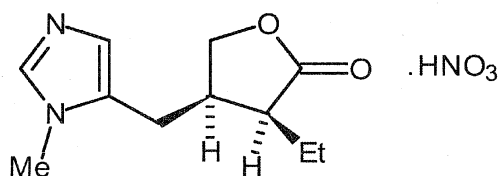
Đựng trong bao bì kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin (nhóm K).

Hàm lượng thường dùng

2 mg, 5 mg, 10 mg.

PILOCARPIN NITRAT*Pilocarpini nitras* $C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HNO_3$

P.t.l: 271,3

Pilocarpin nitrat là (3*S*,4*R*)-3-ethyl-4-[(1-methyl-1*H*-imidazol-5-yl)methyl]-dihydrofuran-2(3*H*)-on nitrat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HNO_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể không màu, không mùi hoặc mùi nhẹ, vị đắng. Chịu tác động của ánh sáng và độ ẩm. Ngay ở nơi thiếu ánh sáng, chế phẩm cũng bị phân hủy từ từ khi tiếp xúc với không khí ẩm. Sự phân hủy xảy ra nhanh hơn ở nhiệt độ cao.

Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong cloroform và ether. Dung dịch pilocarpin nitrat khá bền vững ở pH từ 4 đến 5.

Chảy ở khoảng 174 °C kèm theo phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của pilocarpin nitrat chuẩn.

B. Góc quay cực riêng:

Từ +80,0° đến +83,0° (Phụ lục 6.4). Thử trên dung dịch S và tính theo chế phẩm đã làm khô.

C. Quan sát sắc ký đồ thu được trong phần thử "Tạp chất liên quan": vết chính thu được từ dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (1).

D. Pha loãng 0,2 ml dung dịch S với nước thành 2 ml. Thêm 0,05 ml dung dịch kali dicromat 5 % (TT), 1 ml dung dịch hydrogen peroxyd loãng (TT), 2 ml cloroform (TT) và lắc. Màu tím sẽ xuất hiện trong lớp cloroform.

E. Chế phẩm cho phản ứng của nitrat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V₆ (Phụ lục 9.3; phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S từ 3,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Không được quá 1,0 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - methanol - cloroform (1 : 14 : 85).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,3 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử (1) với nước thành 15 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg pilocarpin nitrat chuẩn trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 3 ml dung dịch đối chiếu (1) với nước thành 10 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 10 phút. Để nguội và phun dung dịch kali iodobismuthat (TT). Trên sắc ký đồ, ngoài vết chính, bất kỳ vết phụ nào thu được từ dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Clorid

Không được quá 70 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 15 ml dung dịch S và tiến hành thử.

Sắt

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Lấy 10 ml dung dịch S tiến hành thử, dùng 5 ml dung dịch sắt mẫu 1 phần triệu (TT) và 5 ml nước để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 30 ml acid acetic khan (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 27,13 mg $C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HNO_3$.

Bảo quản

Trong chai lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Chế phẩm

Dung dịch nhỏ mắt pilocarpin nitrat.

Loại thuốc

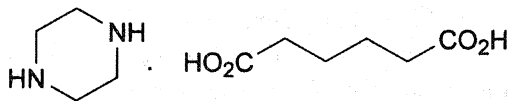
Chất cường đối giao cảm. Thuốc nhỏ mắt làm co đồng tử, hạ nhãn áp, trị glôcôm.

Ghi chú

Dạng muối pilocarpin hydroclorid có cùng tác dụng và công dụng như pilocarpin nitrat.

PIPERAZIN ADIPAT

Piperazini adipas



$C_4H_{10}N_2 \cdot C_6H_{10}O_4$

P.t.l: 232,3

Piperazin adipat phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_4H_{10}N_2 \cdot C_6H_{10}O_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, chảy ở khoảng 250 °C kèm theo phân hủy. Tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của piperazin adipat chuẩn.

B. Trong phép thử "Tập chất liên quan", sau khi phun các dung dịch ninhydrin, vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2) phải tương tự về màu sắc, vị trí, kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1).

C. Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 5 ml *acid hydrochloric* (TT) và chiết 3 lần, mỗi lần với 10 ml *ether* (TT). Gộp dịch chiết và bốc hơi cho tới khô. Rửa cặn với 5 ml nước và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C. Điểm chảy (Phụ lục 6.7) của cặn từ 150 °C đến 154 °C.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm với nước và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không đậm màu hơn màu mẫu N₈ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tập chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - acetone (20 : 80) vừa mới pha.

Dung môi hòa tan: Ethanol - amoniac đậm đặc (2 : 3).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 6 ml amoniac đậm đặc (TT) và pha loãng thành 10 ml bằng ethanol (TT).

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng dung môi hòa tan.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,1 g piperazin adipat chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg *ethylendiamin* (TT) trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 25 mg *triethylendiamin* (TT) trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 12,5 mg *triethylendiamin* (TT) trong 5,0 ml dung dịch thử (1) và pha loãng thành 50 ml bằng dung môi hòa tan.

Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy bản mỏng ở 105 °C và phun lần lượt *dung dịch ninhydrin* 0,3 % trong hỗn hợp *acid acetic* khan - *butanol* (3 : 100), *dung dịch ninhydrin* 0,15 % trong *ethanol*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 10 phút. Trên sắc ký đồ, bất kỳ vết phụ nào thu được từ dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).

Phun lên bản mỏng *dung dịch iod* 0,1 N và để khoảng 10 phút. Vết tương ứng với triethylendiamin thu được từ dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (3) (0,25 %). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (4) cho 2 vết tách rõ ràng. Bỏ qua vết trên vạch xuất phát.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1.

Dùng *dung dịch chì mẫu* 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,00 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 10 ml *acid acetic* khan (TT) bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 70 ml với cùng dung môi. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CD), dùng 0,25 ml *dung dịch 1-naphtholbenzein* (TT) làm chỉ thị, đến khi màu chuyển từ vàng nâu sang xanh lá.

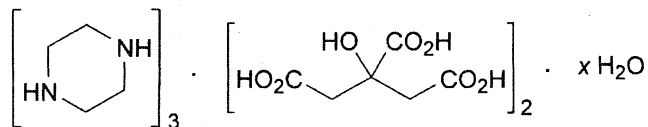
1 ml *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CD) tương đương với 11,61 mg $C_4H_{10}N_2 \cdot C_6H_{10}O_4$.

Bảo quản

Trong chai lọ nút kín.

Loại thuốc

Trị giun sán.

PIPERAZIN CITRAT***Piperazini citras***

$(C_4H_{10}N_2)_3 \cdot 2C_6H_8O_7$ (dạng khan) P.t.l: 643,0

Piperazin citrat phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $(C_4H_{10}N_2)_3 \cdot 2C_6H_8O_7$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột cốm màu trắng, sau khi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C chảy ở khoảng 190 °C. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 % và ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của piperazin citrat chuẩn. Sấy khô chế phẩm và chất chuẩn ở 120 °C trong 5 giờ, tránh ẩm và đo phổ hồng ngoại ngay.

B. Trong phép thử "Tập chất liên quan", sau khi phun các dung dịch ninhydrin, vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2) phải tương tự về màu sắc, vị trí và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1).

C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml nước, dung dịch này cho phản ứng đặc trưng của citrat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không đậm màu hơn màu của màu mẫu N₈ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tập chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - acetone (20 : 80) vừa mới pha.

Dung môi hòa tan: Ethanol - amoniac đậm đặc (2 : 3).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 6 ml amoniac đậm đặc (TT) và pha loãng thành 10 ml bằng ethanol (TT).

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng dung môi hòa tan.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,1 g piperazin citrat chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg ethylendiamin (TT) trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 25 mg triethylen-diamin (TT) trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 12,5 mg triethylen-diamin (TT) trong 5,0 ml dung dịch thử (1) và pha loãng thành 50 ml bằng dung môi hòa tan.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy bản mỏng ở 105 °C và phun lần lượt dung dịch ninhydrin 0,3 % trong hỗn hợp acid acetic khan - butanol (3 : 100), dung dịch ninhydrin 0,15 % trong ethanol. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 10 phút.

Trên sắc ký đồ, bất kỳ vết phụ nào thu được từ dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).

Phun lên bản mỏng dung dịch iod 0,1 N và để khoảng 10 phút. Vết tương ứng với triethylen-diamin thu được từ dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (3). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (4) cho 2 vết tách rõ ràng.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Từ 10,0 % đến 14,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 10 ml acid acetic khan (TT) bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng 70 ml bằng cùng dung môi. Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD) dùng 0,25 ml dung dịch 1-naphtholbenzein (TT) làm chỉ thị, đến khi màu chuyển từ vàng nâu sang xanh lá.

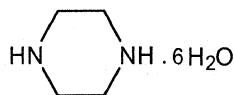
1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD) tương đương với 10,71 mg $(C_4H_{10}N_2)_3 \cdot 2C_6H_8O_7$.

Bảo quản

Trong chai lọ nút kín.

Loại thuốc

Trị giun sán.

PIPERAZIN HYDRAT**Piperazini hydras**C₄H₁₀N₂·6H₂O

P.t.l: 194,2

Piperazin hydrat phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % C₄H₁₀N₂·6H₂O.

Tính chất

Tinh thể không màu, dễ chảy nước.

Dễ tan trong nước và ethanol 96 %, rất khó tan trong ether.

Chảy ở khoảng 43 °C.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của piperazin hydrat chuẩn. Làm khô chế phẩm và chất chuẩn trên *phosphor pentoxyd* (TT), trong chân không, trong 48 giờ. Nghiền thành bột, tránh hút nước, ép đĩa và ghi phổ ngay.

B. Trong mục thử “Tập chất liên quan”, quan sát bản mỏng sau khi phun các dung dịch ninhydrin: vết chính thu được từ dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (1).

C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng* (TT), thêm 0,2 ml *benzoyl clorid* (TT), trộn đều. Tiếp tục thêm từng phần 0,2 ml *benzoyl clorid* (TT) đến khi không còn tủa tạo thành. Lọc và rửa tủa nhiều lần với tổng cộng 10 ml *nước*. Hòa tan tủa trong 2 ml *ethanol 96 %* (TT) nóng, cho dung dịch này vào 5 ml *nước*. Để yên 4 giờ, lọc, rửa tinh thể bằng *nước* và sấy khô từ 100 °C đến 105 °C. Tinh thể chảy từ 191 °C đến 196 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd* (TT) và pha loãng thành 20 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được thâm hơn màu mẫu N₈ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Dung dịch S có pH từ 10,5 đến 12,0 (Phụ lục 6.2).

Tập chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - aceton (20 : 80) vừa mới pha.

Dung môi hòa tan: Hỗn hợp ethanol - amoniac đậm đặc (2 : 3).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 6 ml *amoniac đậm đặc* (TT) và pha loãng thành 10 ml bằng ethanol (TT).

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) bằng dung môi hòa tan và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,1 g *piperazin hydrat chuẩn* (TT) trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg *ethylendiamin* (TT) trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 25 mg *triethylen-diamin* (TT) trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 12,5 mg *triethylendiamin* (TT) trong 5,0 ml dung dịch thử (1) và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy bản mỏng ở 105 °C và phun lần lượt *dung dịch ninhydrin 0,3 % trong hỗn hợp acid acetic khan - butanol* (3 : 100), *dung dịch ninhydrin 0,15 % trong ethanol*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 10 phút.

Trên sắc ký đồ bất kỳ vết phụ nào thu được từ dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).

Phun lên bản mỏng *dung dịch iod 0,1 N* và để khoảng 10 phút. Vết tương ứng với *triethylendiamin* (TT) thu được từ dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (3). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (4) cho 2 vết tách rõ ràng.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong 10 ml *acid acetic khan* (TT) bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 70 ml với cùng dung môi. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ), dùng 0,25 ml *dung dịch 1-naphtholbenzein* (TT) làm chỉ thị, đến khi màu chuyển từ vàng nâu sang xanh lục.

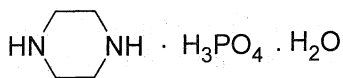
1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 9,705 mg C₄H₁₀N₂·6H₂O.

Bảo quản

Trong lọ kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Trị giun sán.

PIPERAZIN PHOSPHAT*Piperazini phosphas* $C_4H_{10}N_2 \cdot H_3PO_4 \cdot H_2O$

P.t.l: 202,1

Piperazin phosphat phải chứa từ 98,5 % đến 100,5 % $C_4H_{10}N_2 \cdot H_3PO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, không mùi hoặc gần như không mùi. Hơi tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml nước, thêm 0,5 g *natri hydrocarbonat* (TT), 0,5 ml dung dịch kali fericyanid 5 % (TT) và 0,1 ml thủy ngân (TT). Lắc mạnh 1 phút và để yên 20 phút. Màu đỏ dần dần xuất hiện.

B. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 5 ml dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT), vừa khuấy vừa thêm 1 ml dung dịch natri nitrit 50 % và làm lạnh trong nước đá khoảng 15 phút, khuấy nếu cần thiết để tạo tủa kết tinh. Điểm chảy (Phụ lục 6.7) của tinh thể sau khi rửa bằng 10 ml nước đá và sấy khô ở 105 °C khoảng 159 °C.

C. Dung dịch của chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của ion phosphat (Phụ lục 8.1).

pH

Dung dịch chế phẩm 1 % có pH từ 6,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 20 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT). Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chỉ mẫu 2 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Từ 8,0 % đến 9,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,250 g chế phẩm.

Định lượng

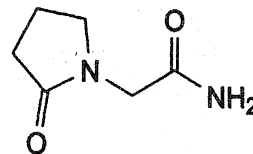
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 3,5 ml dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT) và 10 ml nước. Thêm 100 ml dung dịch acid picric (TT), đun nóng trên cách thủy 15 phút và để yên 1 giờ. Lọc qua phễu xốp G₄ và rửa tủa mỗi lần bằng 10 ml hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch bão hòa acid picric (TT) và nước, đến khi nước rửa không còn phản ứng của ion sulfat. Rửa tủa 5 lần, mỗi lần với 10 ml ethanol (TT) và sấy đến khối lượng không đổi ở 100 °C đến 105 °C. 1 g cân tương đương với 338,2 mg $C_4H_{10}N_2 \cdot H_3PO_4$.

Bảo quản

Trong lọ kín.

Loại thuốc

Trị giun sán.

PIRACETAM*Piracetamum* $C_6H_{10}N_2O_2$

P.t.l: 142,2

Piracetam là 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)acetamid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_6H_{10}N_2O_2$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột đa hình màu trắng hoặc gần như trắng. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của piracetam chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại có sự khác biệt, hòa tan riêng biệt chế phẩm thử và piracetam chuẩn trong ethanol 96 % (TT), bốc hơi dung môi trên cách thủy tới khô, dùng cân thu được ghi phổ mới để so sánh.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.1) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch kali hydrophosphat 0,1 % (10 : 90). Điều chỉnh về pH 6,0 bằng dung dịch acid phosphoric loãng (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp acetonitril - nước (10 : 90) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với hỗn hợp acetonitril - nước (10 : 90). Lấy 5,0 ml dung dịch thu được pha loãng thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi trên.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg chế phẩm và 10 mg 2-pyrrolidon (TT) trong hỗn hợp acetonitril - nước (10 : 90) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 205 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic piracetam và pic 2-pyrrolidon ít nhất là 3; hệ số đối xứng của pic piracetam không quá

2,0. Tiêm dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Tiến hành chạy sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 8 lần thời gian lưu của pic piracetam (thời gian lưu của pic piracetam khoảng 4 phút). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: diện tích pic của bất cứ tạp nào cũng không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %). Tổng diện tích của các tạp không được vượt quá 3 lần diện tích pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,3 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn một nửa diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 10 ml nước. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,75 g chế phẩm hòa tan trong 50 ml nước không có carbon dioxyl (TT). Thêm 20,0 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (CĐ) và đun hồi lưu trong 15 phút. Để nguội và thêm 25,0 ml dung dịch acid hydrochloric 1 M (CĐ). Đun hồi lưu trong 2 phút, để nguội và thêm 1,0 ml dung dịch phenolphthalein (TT). Định lượng bằng dung dịch natri hydroxyd 1 M (CĐ) cho đến khi màu hồng xuất hiện.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (CĐ) tương đương với 142,2 mg $C_6H_{10}N_2O_2$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc hưng trí.

Chế phẩm

Viên nang.

NANG PIRACETAM

Capsulae Piracetami

Là nang cứng có chứa piracetam.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng piracetam, $C_6H_{10}N_2O_2$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với hàm lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng, bột thuốc trong nang màu trắng ngà.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic piracetam trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Lấy một lượng bột chế phẩm đã nghiền mịn tương ứng khoảng 0,5 g piracetam lắc kỹ với 10 ml nước, lọc. Lấy 2 ml dịch lọc thêm 1 giọt dung dịch kali permanganat 5 % (TT). Sau đó thêm dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT) sẽ có màu tím chuyển sang xanh da trời và cuối cùng là màu xanh lá cây.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - nước (10 : 90).

Dung dịch thử: Cân thuốc trong 20 nang, tính khối lượng trung bình của thuốc trong một nang, trộn đều rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột chế phẩm tương ứng khoảng 0,1 g piracetam hòa tan trong pha động vừa đủ 100 ml, lắc kỹ và lọc. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc pha loãng đến 50,0 ml bằng pha động, trộn đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 100 mg piracetam chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml pha động, lắc siêu âm để hòa tan, thêm pha động đến định mức, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch trên thành 50,0 ml bằng pha động, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tinh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Hiệu năng của cột xác định trên pic piracetam không được nhỏ hơn 2000 đĩa lý thuyết.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng piracetam, $C_6H_{10}N_2O_2$, trong nang dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_6H_{10}N_2O_2$ của piracetam chuẩn.

Bảo quản

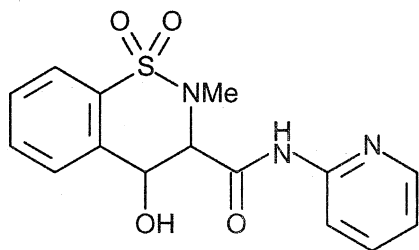
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc hưng trí (cải thiện chuyển hóa của tế bào thần kinh).

Hàm lượng thường dùng

200 mg và 400 mg.

PIROXICAM**Piroxicamum**C₁₅H₁₃N₃O₄S

P.t.l: 331,4

Piroxicam là 4-hydroxy-2-methyl-N-(pyridin-2-yl)-2H-1,2-benzothiazin-3-carboxamid-1,1-dioxyd, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % C₁₅H₁₃N₃O₄S, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh đa hình, màu trắng hay ngà vàng. Thực tế không tan trong nước, tan trong methylen clorid, hơi tan trong ethanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của piroxicam chuẩn. Nếu 2 phổ hồng ngoại thu được không phù hợp, tiến hành hòa tan riêng rẽ chế phẩm và piroxicam chuẩn trong thể tích tối thiểu của *dicloromethan* (TT), bốc hơi đến khô trên nồi cách thủy và đo lại phổ hồng ngoại của các căn mới thu được.

B. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 80 ml *methanol* (TT), thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với *methanol* (TT). Hút 10 ml dung dịch trên, pha loãng thành 100 ml với *methanol* (TT). Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ 220 nm đến 420 nm. Dung dịch cho hai cực đại hấp thụ ở bước sóng 242 nm và 334 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở 334 nm và 242 nm từ 2,2 đến 2,5.

C. Trong phép thử Tạp chất liên quan: Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải giống về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Acid acetic khan - toluen* (1 : 9).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,30 g chế phẩm trong *methylen clorid* (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 20 ml với *methylen clorid* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30 mg piroxicam chuẩn trong *methylen clorid* (TT) và pha loãng đến 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hút 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1), thêm *methylen clorid* (TT) vừa đủ 50,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 30 mg pyrid-2-ylamin trong *methylen clorid* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Hút 2 ml dung dịch này pha loãng thành 50 ml với *methylen clorid* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết phụ trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) tương ứng với pyrid-2-ylamin không được thâm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %). Không được có vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), ngoài vết chính và vết phụ tương ứng với pyrid-2-ylamin, thâm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; trong chân không; 100 °C đến 105 °C; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 60 ml hỗn hợp đồng thể tích của *anhydrid acetic* (TT) và *acid acetic khan* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N* (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Tiến hành song song mẫu trắng.

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 33,14 mg C₁₅H₁₃N₃O₄S.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống viêm không steroid.

Chế phẩm

Viên nang, viên nén, thuốc tiêm, viên đạn.

NANG PIROXICAM***Capsulae Piroxicami***

Là nang cứng chứa piroxicam.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nang” (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng piroxicam, $C_{15}H_{13}N_3O_4S$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng, bột thuốc trong nang trắng hoặc vàng nhạt, không mùi.

Định tính

A. Trong phần Tập chất liên quan, vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải có vị trí và màu sắc tương ứng với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic piroxicam thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) (nếu cần) để được dung dịch có nồng độ khoảng 10 µg/ml.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg piroxicam chuẩn cho vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml methanol (TT) để hòa tan, pha loãng bằng nước cất đến vạch, lắc đều. Lấy chính xác 10 ml dung dịch này cho vào bình định mức 100 ml khác, pha loãng bằng dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) đến vạch, lắc đều.

Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử và chuẩn ở bước sóng 242 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm. Dùng dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) làm mẫu trắng. Tính lượng piroxicam hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ trong piroxicam chuẩn. Có thể lấy A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 242 nm là 352 để tính hàm lượng chất giải phóng được.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % piroxicam, $C_{15}H_{13}N_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan sau 45 phút.

Ghi chú: Nếu vỏ nang ảnh hưởng đến kết quả phân tích, lấy hết bột thuốc trong 6 nang và hòa tan vỏ nang

trong thể tích môi trường hòa tan đã qui định. Tiến hành thử như trên và tính hệ số hiệu chỉnh. Hệ số hiệu chỉnh không được lớn hơn 25 % hàm lượng ghi trên nhãn.

2-Pyridylamin

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Diethylamin - dicloromethan (1 : 8).

Dung dịch thử: Cân một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 80 mg piroxicam, lắc kỹ với 25 ml dicloromethan (TT), lọc và làm bay hơi dịch lọc tới khô bằng máy cất quay. Hòa tan cặn trong 2 ml dicloromethan (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 2-pyridylamin 0,010 % trong dicloromethan (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, bất kỳ vết nào tương ứng với 2-pyridylamin phải không được có màu đậm hơn vết có được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,25 %).

Tập chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Toluen - acid acetic (90 : 10).

Dung dịch thử (1): Hòa tan một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 80 mg piroxicam trong 25 ml dicloromethan (TT), lọc và làm bay hơi dịch lọc tới khô bằng máy cất quay. Hòa tan cặn trong 2 ml dicloromethan (TT).

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 20 ml với dicloromethan (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch piroxicam chuẩn 0,20 % trong dicloromethan (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2 ml dung dịch thử (2) thành 50 ml với dicloromethan (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 7,5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết nào ngoài vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) phải không được có màu đậm hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Bỏ qua vết nằm trên đường xuất phát.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch đệm (60 : 40).

Dung dịch đệm: Trộn dung dịch (1) chứa 5,35 g dinatri hydrophosphat (TT) trong 100 ml nước vào dung dịch

(2) chứa 7,72 g *acid citric* (TT) trong 400 ml *nước*, sau đó pha loãng bằng *nước* thành 1000 ml.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng khoảng 10 mg piroxicam vào bình định mức 200 ml, thêm 150 ml dung dịch *acid hydrochloric* 0,01 M trong *methanol* (TT), siêu âm 30 phút, làm nguội, thêm đến định mức với cùng dung môi, trộn đều và lọc.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng piroxicam chuẩn trong dung dịch *acid hydrochloric* 0,01 M trong *methanol* (TT) để thu được dung dịch có nồng độ 0,005 %.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (30 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 242 nm.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Cách tiến hành: Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng piroxicam, $C_{15}H_{13}N_3O_4S$, có trong nang dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ của piroxicam chuẩn.

Bảo quản

Trong lọ nút kín hoặc ép vỉ bấm, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng

10 mg, 20 mg.

VIÊN NÉN PIROXICAM

Tabellae Piroxicami

Là viên nén chứa piroxicam. Viên có thể được bao phim hoặc bao đường.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng piroxicam, $C_{15}H_{13}N_3O_4S$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên có màu đồng nhất, không mùi.

Định tính

A. Trong phần thử Tạp chất liên quan, vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải có vị trí và màu sắc tương ứng với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic piroxicam trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch *acid hydrochloric* 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần môi trường đã hòa tan hoạt chất, lọc và pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrochloric* 0,1 M (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 10 μg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 242 nm, dùng *dung dịch acid hydrochloric* 0,1 M (TT) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng piroxicam, $C_{15}H_{13}N_3O_4S$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 352 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 242 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % lượng piroxicam so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

2-Pyridylamin

Không được quá 0,25 %.

Tiến hành như mô tả trong mục 2-Pyridylamin của chuyên luận “Nang piroxicam”, thay bột thuốc trong nang bằng bột viên.

Tạp chất liên quan

Phải đáp ứng các yêu cầu và phép thử như mô tả trong mục Tạp chất liên quan của chuyên luận “Nang piroxicam”, thay bột thuốc trong nang bằng bột viên.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký và cách tiến hành thực hiện như mô tả trong mục Định lượng của chuyên luận “Nang piroxicam”.

Dung dịch thử: Cân 20 viên (loại bỏ lớp bao, nếu có), tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Tiếp tục tiến hành như mô tả trong mục Định lượng của chuyên luận “Nang piroxicam”.

Bảo quản

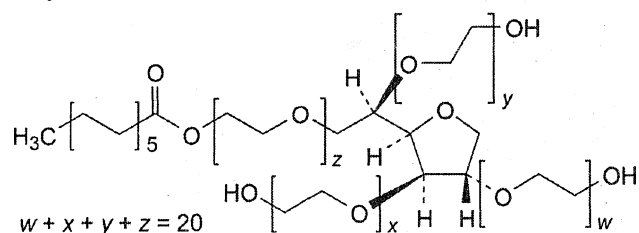
Đựng trong lọ nút kín hoặc ép vỉ bấm, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng

10 mg, 20 mg.

POLYSORBAT 20**Polysorbatum 20**

Polysorbat 20 là hỗn hợp các ester từng phần của acid lauric với sorbitol và các anhydrid của nó đã được copolyme hóa với khoảng 20 phân tử ethylen oxyd cho mỗi phân tử sorbitol và các anhydrid của sorbitol. Acid lauric được dùng để ester hóa có thể chứa các acid béo khác.

Tính chất

Chất lỏng dạng dầu màu vàng hoặc vàng nâu, trong hoặc hơi đục. Hỗn hòa với nước, ethanol, ethyl acetat và với methanol, thực tế không tan trong các dầu béo và parafin lỏng.

Tỷ trọng tương đối khoảng 1,10.

Định tính

A. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong nước ở khoảng 50 °C và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được tạo bọt khi lắc. Thêm 0,5 g *natri clorid* (TT) và đun đến sôi. Dung dịch có vẩn đục, vẩn đục này biến mất khi để nguội đến khoảng 50 °C.

B. Cho vào 4 g chế phẩm 40 ml *dung dịch kali hydroxyd* 5 % rồi đun hồi lưu trong cách thủy trong 30 phút, để nguội đến khoảng 80 °C, thêm 20 ml *acid nitric loãng* (TT) rồi đun hồi lưu khoảng 10 phút để phá vỡ nhũ tương. Acid béo tách ra nằm trên bề mặt ở dạng dầu lỏng. Để nguội đến nhiệt độ phòng. Chuyển acid béo sang bình gạn bằng 50 ml *ether dầu hòa* (TT), tránh lắc mạnh. Rửa pha hữu cơ 3 lần, mỗi lần với 5 ml nước. Bốc hơi pha hữu cơ trên cách thủy đến khô. Chỉ số acid của cặn thu được từ 245 đến 300, dùng 0,30 g cặn để xác định (Phụ lục 7.2).

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *cloroform* (TT). Thêm 0,1 g *kali thiocyanat* (TT) và 0,1 g *cobalt nitrat* (TT). Khuấy bằng đũa thủy tinh. Dung dịch xuất hiện màu xanh lam.

Chỉ số acid

Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.2).

Lấy 5,0 g chế phẩm hòa tan trong 50 ml hỗn hợp dung môi như đã được mô tả trong chuyên luận chung.

Chỉ số hydroxyl

Từ 96 đến 108 (Phụ lục 7.4, phương pháp A).

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Chỉ số iod

Không được quá 5,0 (Phụ lục 7.7).

Chỉ số xà phòng hóa

Từ 40 đến 50 (Phụ lục 7.7).

Dùng 2,0 g chế phẩm. Lấy 15,0 ml *dung dịch kali hydroxyd* 0,5 M trong ethanol và pha loãng với 50 ml ethanol 96 % (TT) trước khi định lượng.

Tạp chất khử

Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong 25 ml nước nóng rồi thêm 25 ml *acid sulfuric loãng* (TT) và 0,1 ml *dung dịch feroin sulfat* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch ceri amoni nitrat* 0,01 M (CĐ), lắc thường xuyên đến khi màu của hỗn hợp chuyển từ đỏ sang xanh lam ánh xanh lá bên trong 30 giây. Thực hiện 1 mẫu trắng. Thể tích *dung dịch ceri amoni nitrat* 0,01 M (CĐ) đã dùng không được vượt quá 2,0 ml.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Dùng 2,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 3,0 %, (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,00 g chế phẩm.

Tro sulfat

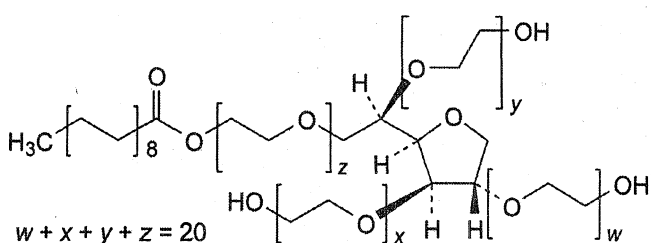
Không được quá 0,2 %. Lấy 2,00 g chế phẩm cho vào chén nung bằng silic hoặc bạch kim, thêm 0,5 ml *acid sulfuric* (TT) rồi đun trên cách thủy trong 2 giờ. Nung cẩn thận ở nhiệt độ thấp đến khi carbon hóa xong. Thêm vào chén tro lần lượt 2 ml *acid nitric* (TT) và 0,25 ml *acid sulfuric* (TT), đun nóng cẩn thận cho đến khi hết khói trắng rồi nung ở 600 °C đến khi không còn các tiểu phân màu đen, để nguội. Cân và nung lại 15 phút nếu cần đến khi khối lượng không đổi.

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chất điện hoạt không ion hóa.

POLYSORBAT 60**Polysorbatum 60**

Polysorbat 60 là hỗn hợp các este từng phần của acid stearic với sorbitol và các anhydrid của nó đã được copolyme hóa với khoảng 20 phân tử ethylen oxyd cho mỗi phân tử sorbitol và các anhydrid của sorbitol.

Acid stearic được dùng để este hóa có thể chứa các acid béo khác, đặc biệt là acid palmitic.

Tính chất

Khối keo như gelatin, màu nâu vàng, trở thành lỏng trong ở nhiệt độ trên 25 °C. Tan trong nước, ethanol, ethyl acetat và methanol, thực tế không tan trong các dầu béo và parafin lỏng.

Tỷ trọng tương đối khoảng 1,10.

Định tính

A. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong nước ở khoảng 50 °C và pha loãng đến 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được tạo bọt khi lắc. Thêm 0,5 g *natri clorid* (TT) và đun đến sôi. Dung dịch có vẩn đục, vẩn đục này biến mất khi để nguội đến khoảng 50 °C.

B. Cho vào 4 g chế phẩm 40 ml *dung dịch kali hydroxyd* 5 % rồi đun hồi lưu cách thủy trong 60 phút, để nguội đến khoảng 80 °C, thêm 20 ml *acid nitric loãng* (TT) rồi đun hồi lưu khoảng 10 phút để phá vỡ nhũ tương. Acid béo tách ra nằm trên bề mặt ở dạng dầu lỏng. Để nguội đến nhiệt độ phòng. Chuyển acid béo sang bình gạn bằng 100 ml *ether dầu hỏa* (TT), tránh lắc mạnh. Rửa pha hữu cơ 3 lần, mỗi lần với 10 ml nước. Bốc hơi pha hữu cơ trên cách thủy đến khô. Sấy cần ở 100 °C đến 105 °C trong 2 giờ để loại bỏ hết dung môi. Chỉ số acid của cần thu được từ 190 đến 220. (Phụ lục 7.2). Dùng 0,50 g cần để xác định.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *cloroform* (TT). Thêm 0,1 g *kali thiocyanat* (TT) và 0,1 g *cobalt nitrat* (TT). Khuấy bằng đũa thủy tinh. Dung dịch xuất hiện màu xanh lam.

Chỉ số acid

Không quá 2,0 (Phụ lục 7.2).

Dùng 5,0 g chế phẩm hòa tan trong 50 ml hỗn hợp dung môi như đã được mô tả trong chuyên luận chung.

Chỉ số hydroxyl

Từ 81 đến 96 (Phụ lục 7.4, phương pháp A).

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Chỉ số iod

Không được quá 5,0 (Phụ lục 7.5).

Chỉ số xà phòng hóa

Từ 45 đến 55 (Phụ lục 7.7).

Dùng 2,0 g chế phẩm. Lấy 15,0 ml *dung dịch kali hydroxyd* 0,5 M trong ethanol và pha loãng với 50 ml ethanol (TT) trước khi định lượng.

Tạp chất khử

Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong 25 ml nước nóng rồi thêm 25 ml *acid sulfuric loãng* (TT) và 0,1 ml *dung dịch feroiin sulfat* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch ceri amoni nitrat* 0,01 M (CD), lắc thường xuyên đến khi

màu của hỗn hợp chuyển từ đỏ sang xanh lam ánh xanh lá bên trong 30 giây. Thực hiện 1 mẫu trắng. Thể tích *dung dịch ceri amoni nitrat* 0,01 M (CD) đã dùng không được vượt quá 2,0 ml.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Dùng 2,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 3,0 %, (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,00 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,2 %.

Lấy 2,00 g chế phẩm cho vào chén nung bằng silic hoặc bạch kim, thêm 0,5 ml *acid sulfuric* (TT) rồi đun trên cách thủy trong 2 giờ. Nung cần thận ở nhiệt độ thấp đến khi carbon hóa xong. Thêm vào cần tro lần lượt 2 ml *acid nitric* (TT) và 0,25 ml *acid sulfuric* (TT), đun nóng cần thận cho đến khi hết khói trắng rồi nung ở 600 °C đến khi không còn các tiểu phân màu đen, để nguội. Cân và nung lại 15 phút nếu cần đến khi khối lượng không đổi.

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

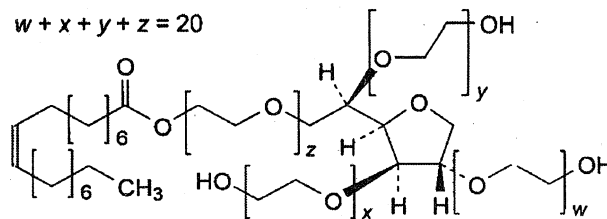
Loại thuốc

Chất điện hoạt không ion hóa.

POLYSORBAT 80

Polysorbatum 80

$$w + x + y + z = 20$$



Polysorbat 80 là hỗn hợp các este từng phần của các acid béo khác nhau, chủ yếu là của acid oleic, với sorbitol và các anhydrid của nó đã được copolyme hóa với khoảng 20 phân tử ethylen oxyd cho mỗi phân tử sorbitol và các anhydrid của sorbitol. Acid béo có thể có nguồn gốc thực vật hoặc động vật, chế phẩm phải chứa ít nhất 60,0 % acid oleic và phải từ 90,0 % đến 110,0 % của hàm lượng acid oleic ghi trên nhãn.

2-Chloroethanol, ethylenglycol và diethylenglycol.

Không được quá 10 phần triệu 2-chloroethanol, 0,25 % ethylenglycol và diethylenglycol. Xác định bằng phương

pháp sắc ký khí tiêm mẫu head-space và dùng phương pháp thêm chuẩn (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Cho 50 mg chế phẩm vào bình 20 ml, thêm 2,0 µl 2-propanol (TT) rồi đậy nắp lại ngay. Để yên khoảng 2 phút nhưng không được quá 5 phút.

Dung dịch đối chiếu: Cho 50 mg chế phẩm vào bình 20 ml, thêm 2,0 µl dung dịch có chứa 0,25 mg/ml 2-cloroethanol (TT); 31,25 mg/ml ethylenglycol (TT) và 31,25 mg/ml diethylenglycol (TT) trong 2-propanol (TT) rồi đậy nắp lại ngay. Để yên khoảng 2 phút nhưng không được quá 5 phút.

Phương pháp sắc ký có thể được thực hiện như sau: Điều kiện tiến hành:

Hệ thống bơm mẫu cơ học ở khoảng đầu được nối với tiền cột bằng thép inox có chiều dài 13,6 mm và đường kính trong 4 mm được nhồi copolyme ethylvinyl benzen - divinyl benzen (TT) được dùng làm bẫy, khí dẫn là khí heli dùng cho sắc ký (TT) với lưu lượng 20 ml/phút rồi như khí phụ trợ với lưu lượng 20 ml/phút. Đặt riêng các bình dung dịch vào cách thủy ở 110 °C và bắt đầu loại bỏ chất khí trong vòng tối đa 5 phút, giữ tiền cột ở 50 °C, sau đó đuổi khí trong 40 phút rồi nâng nhiệt độ lên 210 °C và tiêm mẫu trong 5 phút vào hệ thống sắc ký.

Cột tráng silic có chiều dài 30 m, đường kính trong 0,53 mm, thành bên trong cột được tráng macrogol 20000 dùng cho sắc ký (TT) (bề dày của lớp phim là 1 µm).

Khí dẫn là helium dùng cho sắc ký (TT) có vận tốc tuyến tính 60 cm/giây.

Detector ion hóa ngọn lửa.

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)	Lưu lượng (°C/min)	Chú thích
Cột	0 – 6	60	5	Đẳng nhiệt
	6 – 16	60 → 110		Gradient tuyến tính
	16 – 31	110 → 230	8	Gradient tuyến tính
	31 – 36	230		Đẳng nhiệt
Buồng tiêm		150		
Detector		260		

Tính hàm lượng của 2-cloroethanol, ethylenglycol và diethylenglycol từ diện tích các pic và nồng độ của dung dịch

Tính chất

Chất lỏng trong dạng dầu màu vàng hoặc vàng nâu. Hòa tan với nước, ethanol, ethyl acetat và với methanol, thực tế không tan trong các dầu béo và parafin lỏng.

Tỷ trọng tương đối khoảng 1,08. Độ nhớt khoảng 400 mPas ở 25 °C.

Định tính

Có thể chọn 1 trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C.

Nhóm II: A, D, E.

A. Hòa tan 0,5 g chế phẩm vào nước ở khoảng 50 °C và pha loãng đến 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được tạo bọt khi lắc. Thêm 0,5 g natri clorid (TT) và đun đến sôi. Dung dịch có vẩn đục, vẩn đục này biến mất khi để nguội đến khoảng 50 °C.

B. Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm khi so sánh với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của polysorbat 80 thì phải phù hợp ở các bước sóng 720 cm⁻¹, 1110 cm⁻¹, 1250 cm⁻¹, 1300 cm⁻¹, 1350 cm⁻¹, 1740 cm⁻¹, 2850 cm⁻¹, 2920 cm⁻¹, và 3500 cm⁻¹.

C. Polysorbat 80 phải đạt giới hạn định lượng.

D. Lấy 20 ml dung dịch chế phẩm 5 %, thêm 0,5 ml nước brom (TT). Hỗn hợp mất màu.

E. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml methylen clorid (TT). Thêm 0,1 g kali thiocyanat (TT) và 0,1 g cobalt nitrat (TT). Khuấy bằng đũa thủy tinh. Dung dịch có màu xanh lam.

Chỉ số acid

Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.2).

Lấy 5,0 g chế phẩm hòa tan trong 50 ml hỗn hợp dung môi như đã được mô tả trong chuyên luận chung.

Chỉ số hydroxyl

Từ 65 đến 80 (Phụ lục 7.4, phương pháp A).

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Chỉ số peroxyd

Không được quá 10 (Phụ lục 7.6).

Chỉ số xà phòng hóa

Từ 45 đến 55 (Phụ lục 7.7).

Dùng 2,0 g chế phẩm. Lấy 15,0 ml dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol (CD) và pha loãng với 50 ml nước trước khi định lượng.

Ethylen oxyd và dioxan

Không được quá 1 phần triệu ethylen oxyd và không được quá 10 phần triệu dioxan (Phụ lục 10.15, hệ A).

Khi định lượng dioxan thì dùng hệ số hiệu chỉnh 1/5 cho công thức tính.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Dùng 2,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,000 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,25 %.

Lấy 2,00 g chế phẩm cho vào chén nung bằng silic hoặc bạch kim, thêm 0,5 ml acid sulfuric (TT) rồi đun trên cách thủy trong 2 giờ. Nung cân thận ở nhiệt độ

thấp đến khi carbon hóa xong. Thêm vào cân tro lần lượt 2 ml *acid nitric* (TT) và 0,25 ml *acid sulfuric* (TT), đun nóng cân thận cho đến khi hết khói trắng rồi nung ở 600 °C đến khi không còn các tiểu phân màu đen, để nguội. Cân và nung lại 15 phút nếu cân đến khi khối lượng không đổi.

Chất gây sốt

Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp khác thích hợp để loại bỏ chất gây sốt thì phải đáp ứng yêu cầu về chất gây sốt. Tiêm 5,0 ml dung dịch chứa 2 mg/ml chế phẩm trong *dung dịch natri clorid* 0,9 % cho 1 kg thử thí nghiệm.

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 2 ml *dung dịch natri hydroxyd trong methanol* (TT) trong bình nón 25 ml rồi đun hồi lưu 30 phút. Thêm 2,0 ml *dung dịch bor trifluorid* 14 % trong *methanol* rồi đun hồi lưu 30 phút. Thêm qua ống sinh hàn 4 ml *heptan* (TT) và đun sôi 5 phút. Làm nguội và thêm 10,0 ml *dung dịch natri clorid bão hòa* (TT), lắc khoảng 15 giây rồi thêm *dung dịch natri clorid bão hòa* (TT) cho đến khi lớp chất lỏng ở phía trên lên đến cổ bình. Lấy 1 ml lớp phía trên đem làm khan bằng *natri sulfat khan* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,02 g *methyl oleat* (TT) trong *heptan* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml thành 50,0 ml với *heptan* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy dài 30 m và đường kính trong 0,32 mm, thành bên trong cột được tráng *macrogol* 20000 dùng cho sắc ký (TT) (bề dày của lớp phim là 0,5 µm).

Khí mang là *helium* dùng cho sắc ký (TT) có vận tốc tuyến tính 50 cm/s.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Chương trình nhiệt độ.

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)	Tốc độ (°C/min)	Chú thích
Cột	0 – 4	70	5	Đẳng nhiệt Gradient tuyến tính Đẳng nhiệt
	4 – 38	70 → 240		
Buồng tiêm	38 – 53	240		
		280		

Cách tiến hành:

Tiêm 0,1 µl dung dịch thử và 0,1 µl dung dịch đối chiếu. Thời gian lưu giữ este methyl của acid oleic khoảng 35 phút. Tiếp tục sắc ký thêm 1,5 lần thời gian lưu giữ của pic chính. Tính hàm lượng % acid oleic từ diện tích các pic của dung dịch thử bằng phương pháp

chuẩn hóa. Không tính các pic của dung dịch thử có diện tích nhỏ hơn diện tích của pic thu được từ dung dịch đối chiếu (0,16 %).

Bảo quản

Trong bình kín và tránh ánh sáng.

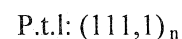
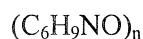
Ghi nhãn

Nhãn của bao bì có ghi hàm lượng acid oleic trong phần acid béo.

Trong trường hợp thích hợp thì ghi chế phẩm không có chất gây sốt.

POVIDON

Povidonum



Povidon là α -hydro- ω -hydropoly[1-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethylen], chứa các polymer mạch thẳng của 1-ethenylpyrrolidin-2-on. Povidon phải chứa từ 11,5 % đến 12,8 % nitơ (N; ng.t.l: 14,01) tính theo chế phẩm khan. Các dạng khác nhau của povidon được đặc trưng bởi độ nhớt của dung dịch, thể hiện qua giá trị K. Giá trị K của povidon với giá trị ghi trên nhãn nhỏ hơn hoặc bằng 15 phải đạt từ 85,0 % đến 115,0 % của giá trị ghi trên nhãn. Giá trị K của povidon với giá trị ghi trên nhãn hoặc giá trị trung bình của khoảng ghi trên nhãn lớn hơn 15 phải đạt từ 90,0 % đến 108,0 % của giá trị ghi trên nhãn hoặc của giá trị trung bình của khoảng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột hay vảy màu trắng hoặc hơi vàng, dễ hút ẩm.

Tan trong nước, ethanol 96 % và methanol, khó tan trong acetone.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của povidon chuẩn. Sấy khô chế phẩm ở 105 °C trong 6 giờ. Dùng 4 mg chế phẩm khô để chuẩn bị mẫu thử.

B. Thêm 10 ml *nước*, 5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng* (TT) và 2 ml *dung dịch kali dicromat* 10,6 % (TT) vào 0,4 ml dung dịch S₁ (Được chuẩn bị ở mục Độ trong và màu sắc của dung dịch). Xuất hiện kết tủa màu vàng cam.

C. Thêm 0,2 ml *dung dịch dimethylaminobenzaldehyd* (TT₁) và 0,1 ml *acid sulfuric* (TT) vào 1 ml dung dịch S₁. Màu hồng xuất hiện.

D. Thêm 5 ml *nước* và 0,2 ml *dung dịch iod* 0,05 M vào 0,1 ml dung dịch S₁. Màu đỏ xuất hiện.

E. Chế phẩm dễ tan trong *nước*.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) bằng cách cho từng phần nhỏ và dùng khuấy từ, pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S_I: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.1) và màu không đậm hơn màu mẫu N₆, VN₆ hoặc Đ₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Dung dịch S có pH từ 3,0 đến 5,0 với chế phẩm có giá trị K ghi trên nhãn nhỏ hơn hoặc bằng 30; 4,0 đến 7,0 với chế phẩm có giá trị K ghi trên nhãn lớn hơn 30 (Phụ lục 6.2).

Aldehyd

Không được quá 0,05 %, tính theo acetaldehyd.

Dung dịch thử: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong dung dịch đệm phosphat pH 9 (TT) vừa đủ 100,0 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung dịch đệm phosphat pH 9,0 (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,140 g acetaldehyd amoni trimer trihydrat trong nước và pha loãng thành 200,0 ml với cùng dung môi. Đậy kín và đun nóng 60 °C trong 1 giờ, sau đó để nguội.

Cách tiến hành: Dùng 3 cuvet có độ dày 1 cm. Trong cuvet thứ nhất cho vào 0,5 ml dung dịch thử; cuvet thứ hai cho vào 0,5 ml dung dịch đối chiếu, cuvet thứ ba cho vào 0,5 ml nước. Lần lượt thêm vào từng cuvet 2,5 ml dung dịch đệm phosphat pH 9,0 và 0,2 ml dung dịch nicotinamid-adenin dinucleotid (TT). Trộn đều và đậy kín. Để yên ở 22 °C ± 2 °C trong 2 phút đến 3 phút. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của mỗi dung dịch ở bước sóng 340 nm, dùng nước làm mẫu trắng. Sau khi đo xong thêm vào mỗi cuvet 0,05 ml dung dịch aldehyd dehydrogenase, trộn đều, đậy kín và để yên ở 22 °C ± 2 °C trong 5 phút. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của mỗi dung dịch ở bước sóng 340 nm, dùng nước làm mẫu trắng. Xác định hàm lượng aldehyd bằng công thức:

$$\frac{(A_{t2} - A_{t1}) - (A_{b2} - A_{b1})}{(A_{s2} - A_{s1}) - (A_{b2} - A_{b1})} \times \frac{100000 \times C}{m}$$

Trong đó:

A_{t1} là độ hấp thụ của dung dịch thử trước khi thêm dung dịch aldehyd dehydrogenase;

A_{t2} là độ hấp thụ của dung dịch thử sau khi thêm dung dịch aldehyd dehydrogenase;

A_{s1} là độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu trước khi thêm dung dịch aldehyd dehydrogenase;

A_{s2} là độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu sau khi thêm dung dịch aldehyd dehydrogenase;

A_{b1} là độ hấp thụ của dung dịch trắng trước khi thêm dung dịch aldehyd dehydrogenase;

A_{b2} là độ hấp thụ của dung dịch trắng sau khi thêm dung dịch aldehyd dehydrogenase;

m là khối lượng chế phẩm (g) tính theo chế phẩm khan;

C là nồng độ (mg/ml) của acetaldehyd trong dung dịch đối chiếu, tính từ khối lượng của acetaldehyd amoni trimer trihydrat nhân với 0,72.

Peroxyd

Không được quá 0,04 %, tính theo hydroperoxyd.

Dung dịch (1): Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 50 ml nước. Thêm vào 25 ml dung dịch thu được 2 ml dung dịch titan clorid - acid sulfuric (TT). Để yên trong 30 phút.

Dung dịch (2): Thêm 2 ml dung dịch acid sulfuric 13 % (tt/tt) vào 25 ml dung dịch còn lại ở trên.

Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch (1) ở bước sóng 405 nm, với dung dịch (2) làm mẫu trắng, không được quá 0,35.

Hydrazin

Không được quá 1 phần triệu. Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel H.

Dung môi khai triển: Nước - methanol (1 : 2).

Dung dịch thử: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 25 ml nước. Thêm 0,5 ml dung dịch salicylaldehyd 5 % trong methanol. Trộn đều và đun nóng cách thủy ở 60 °C trong 15 phút. Để nguội, thêm 2,0 ml toluen (TT), lắc trong 2 phút rồi ly tâm. Sử dụng lớp dịch trong.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 9 mg salicylaldehyd azin (TT) trong toluen (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng toluen (TT).

Các dung dịch trên được chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết tương ứng với salicylaldehyd azin trên sắc đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất A

Không được quá 10 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - nước (10 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg 1-vinylpyrrolidon-2-on chuẩn (tạp chất A) trong methanol (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng methanol

(TT). Lấy 5,0 ml dung dịch thu được pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 10 mg tạp chất chuẩn A của povidon và 0,5 g vinyl acetat trong methanol (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Tiền cột: Cột thép không gỉ (2,5 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Cột phân tích: Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm). Duy trì cột ở nhiệt độ 40 °C.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 235 nm.

Tốc độ dòng: Điều chỉnh sao cho thời gian lưu của pic tương ứng với tạp chất A là khoảng 10 phút.

Thể tích tiêm: 50 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tạp chất A và pic vinylacetat không nhỏ hơn 2,0. Tiêm dung dịch đối chiếu 5 lần. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tạp chất A không quá 2,0 %. Tiêm dung dịch thử. Sau khi tiến hành chạy sắc ký dung dịch thử khoảng 2 phút, rửa tiền cột bằng cách cho pha động chạy ngược lại với tốc độ dòng dùng trong phép thử khoảng 30 phút.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất B

Không được quá 0,3 %. Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước đã điều chỉnh về pH 2,4 bằng acid phosphoric (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 100 mg chế phẩm trong nước vừa đủ 50,0 ml.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 100 mg 2-vinylpyrrolidon chuẩn (tạp chất B) trong nước và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Pha loãng 3,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký:

Tiền cột: Cột thép không gỉ (2,5 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Cột phân tích: Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi aminohexadecylsilyl silica gel (5 μm) dùng cho sắc ký.

Duy trì cột ở nhiệt độ 30 °C.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 205 nm. Một detector đặt giữa tiền cột và cột phân tích. Detector thứ hai đặt sau cột phân tích.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử. Sau khi pic tương ứng với tạp chất B ra khỏi tiền cột (sau khoảng 1,2 phút) cho dung môi chạy thẳng từ bơm vào cột phân tích. Trước khi tiêm mẫu mới rửa tiền cột bằng cách cho pha động chạy ngược lại. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với tạp B không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 4. Dùng 2,0 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3). Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Độ nhót

Với povidon có giá trị độ nhót ghi trên nhãn nhỏ hơn hoặc bằng 18, sử dụng dung dịch 50 g/l. Đối với povidon có giá trị độ nhót ghi trên nhãn lớn hơn 18, dùng dung dịch 10 g/l. Với chế phẩm có giá trị độ nhót ghi trên nhãn cao hơn 95, dùng dung dịch 1 g/l. Để yên 1 giờ và đo độ nhót (Phụ lục 6.3, phương pháp 1) của dung dịch ở 25 °C với thời gian chảy tối thiểu là 100 giây. Tính giá trị K bằng công thức sau:

$$\frac{1,5 \log \eta - 1}{0,15 + 0,003c} + \frac{\sqrt{300c \log \eta + (c + 1,5c \log \eta)^2}}{0,15c + 0,003c^2}$$

Trong đó:

C là nồng độ của chế phẩm (g/100 ml), tính theo chế phẩm khan;

η là độ nhót của dung dịch so với nước.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 100,0 mg chế phẩm (m mg) vào bình đốt Kiieldahl. Thêm 5 g hỗn hợp gồm 1 g đồng sulfat (TT), 1 g titan dioxyd (TT), 33 g kali sulfat (TT) và 3 g bi thủy tinh. Tráng sạch lượng chế phẩm dính ở cổ bình bằng một lượng nhỏ nước. Thêm 7 ml acid sulfuric (TT) dọc theo thành bình và trộn đều bằng cách thỉnh thoảng xoay nhẹ bình. Đậy bình bằng phễu thủy tinh có cuống dài rồi đun nóng từ từ cho đến khi dung dịch sôi mạnh và acid sulfuric ngưng tụ ở cổ bình. Thận trọng tránh đun nóng quá phần trên của bình. Tiếp tục đun bình trong 45 phút rồi làm lạnh. Hòa tan phần chất rắn bằng cách thêm từ từ 20 ml nước. Tiếp tục làm lạnh và lắp bình vào bộ cất

hơi nước. Thêm 30 ml *dung dịch natri hydroxyd 42 %* qua phễu. Tráng phễu bằng 10 ml nước rồi cất ngay bằng hơi nước. Hứng 80 ml đến 100 ml dịch cất vào bình có chứa 30 ml *dung dịch acid boric 4 %*, 3 giọt *dung dịch xanh bromocresol - đỏ methyl (TT)* và lượng nước đủ để làm ngập đầu của bộ phận ngưng tụ. Vào cuối quá trình cất, hạ thấp bình hứng sao cho đầu của bộ phận ngưng tụ cao hơn bề mặt của dung dịch acid. Tráng đầu cuối của bộ phận ngưng tụ với một lượng nhỏ nước. Định lượng dịch cất bằng *dung dịch acid sulfuric 0,025 M (CĐ)* cho đến khi màu chuyển từ xanh lá cây sang xanh lam nhạt rồi chuyển sang đỏ tía nhạt [hết n_1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,025 M (CĐ)*]. Tiến hành song song mẫu đối chiếu sử dụng khoảng 100,0 mg *glucose khan (TT)* thay cho chế phẩm [hết n_2 ml *dung dịch acid sulfuric 0,025 M (CĐ)*]. Hàm lượng nitơ trong chế phẩm được tính theo công thức:

$$N (\%) = \frac{0,7004 (n_1 - n_2)}{m} \times 100$$

Bảo quản

Trong bình kín.

Loại thuốc

Tá dược.

POVIDON IOD***Povidonum iodinatum***

Povidon iod là phức hợp của iod và povidon, phải chứa từ 9,0 % đến 12,0 % iod, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Điều chế

Sử dụng povidon đạt các tiêu chuẩn trong chuyên luận povidon. Povidon dùng để điều chế povidon iod có hàm lượng acid formic không được quá 2,0 %.

Tính chất

Bột vô định hình màu nâu vàng hoặc nâu đỏ. Tan trong nước và ethanol 96 %, thực tế không tan trong acetone.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của povidon iod chuẩn.

B. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 10 ml nước và thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*. Màu xanh đậm xuất hiện.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml nước và thêm nhỏ giọt *dung dịch natri sulfat 1 %* cho đến khi dung dịch mất màu. Thêm 2 ml *dung dịch kali dicromat 10,6 % (TT)* và 1 ml *acid hydrocloric (TT)*. Xuất hiện tua màu nâu nhạt.

pH

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml nước không có carbon dioxyd (TT). pH của dung dịch phải từ 1,5 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Iodid

Không được quá 6,0 %, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 100 ml nước. Thêm *natri metabisulfat (TT)* đến khi mất màu của iod. Thêm 25,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (CĐ)*, 10 ml *acid nitric (TT)* và 5 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 M (CĐ)*. Tiến hành song song mẫu trắng.

1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 12,69 mg tổng iod. Từ phần trăm của tổng iod tính theo chế phẩm đã làm khô trừ đi phần trăm của iod xác định được từ phép định lượng sẽ thu được phần trăm của iodid.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Chuyển 1,000 g chế phẩm vào bình cầu có nắp. Thêm 100 ml nước và khuấy trong 1 giờ. Thêm 1 ml *dung dịch acid acetic loãng (TT)* và định lượng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 12,69 mg iod.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Sát trùng.

DUNG DỊCH POVIDON IOD***Solutio Povidoni Iodini***

Dung dịch povidon iod là dung dịch thuốc dùng ngoài chứa povidon iod.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Dung dịch thuốc" (Phụ lục 1.3) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng iod, I, từ 0,85 % đến 1,20 % (kl/tt).

Tính chất

Chất lỏng màu nâu thẫm.

Định tính

A. Pha loãng 1 ml chế phẩm với nước thành 20 ml. Lấy 1 ml dung dịch vừa pha loãng, thêm vào đó 1 ml

dung dịch hỗn hợp gồm 1 ml *hồ tinh bột* (TT) và 9 ml *nước*, dung dịch có màu xanh thẫm.

B. Chuyển 10 ml chế phẩm vào bình nón 50 ml và phủ lên miệng bình miếng giấy lọc đã được tẩm 0,05 ml *hồ tinh bột* (TT), giấy lọc không chuyển màu xanh trong 60 giây.

C. Pha loãng 20 ml chế phẩm với *nước* thành 100 ml. Lấy 10 ml dung dịch này và thêm vào đó từng giọt *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M* cho đến khi dung dịch mất màu của iod, để 5 ml cho thử nghiệm D. Lấy 5 ml dung dịch, thêm vào 10 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M* (TT) và 5 ml *dung dịch kali dicromat 7,0 %*, xuất hiện tủa màu đỏ.

D. Lấy 5 ml dung dịch ở thử nghiệm C để lại, thêm 2 ml *dung dịch amoni cobalthiocyanat* (được chuẩn bị bằng cách hòa tan 3,75 g *cobalt nitrat* (TT) và 15 g *amoni thiocyanat* (TT) trong *nước* rồi thêm *nước* vừa đủ 100 ml, dung dịch pha dùng trong ngày) vừa mới acid hóa bằng *dung dịch acid hydrochloric 5 M* (TT), dung dịch có tủa màu xanh.

pH

Từ 1,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Iodid

Không quá 0,6 % khi tiến hành theo phương pháp sau:

Pha loãng 5 ml dung dịch chế phẩm với *nước* thành 100 ml và thêm *natri metabisulfite* (TT) cho đến khi màu của iod biến mất. Thêm 25 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N* (CD), 10 ml *acid nitric* (TT) và 5 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 %* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N* (CD). Tiến hành song song mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N* (CD) tương đương với 12,69 mg iod toàn phần.

Tính hàm lượng phần trăm iod toàn phần và trừ cho hàm lượng phần trăm của iod đã được xác định trong phần định lượng để thu được hàm lượng phần trăm của iodid.

Định lượng

Lấy 10,0 ml chế phẩm, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT) và thêm *nước* vừa đủ 150 ml, chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,02 M* (CD). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,02 M* (CD) tương đương với 2,538 mg iod, I.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

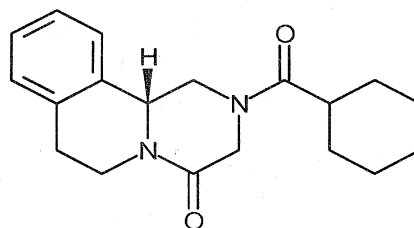
Thuốc bôi ngoài da chống nhiễm khuẩn.

Hàm lượng thường dùng

Dung dịch 10 %.

PRAZIQUANTEL

Praziquantelum



và đồng phân đối quang

$C_{19}H_{24}N_2O_2$

P.t.l: 312,4

Praziquantel là (11b*RS*)-2-(cyclohexylcarbonyl)-1,2,3,6,7,11b-hexahydro-4*H*-pyrazino[2,1-*a*] isoquinolin-4-on, phải chứa từ 97,5 % đến 102,0 % $C_{19}H_{24}N_2O_2$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh đa hình, màu trắng hay gần như trắng. Rất khó tan trong *nước*, dễ tan trong ethanol 96 % và trong methylen clorid.

Định tính

Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của praziquantel chuẩn. Nếu có sự khác biệt thì hòa tan riêng biệt 50 mg chế phẩm và 50 mg praziquantel chuẩn trong 2 ml *methanol* (TT). Bốc hơi và làm khô cần ở nhiệt độ 60 °C và dưới áp suất không quá 0,7 kPa. Ghi lại phổ hồng ngoại của các cần thu được.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - *nước* (45 : 55).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 40 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 20,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40 mg praziquantel chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 20,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg tạp chất chuẩn A của praziquantel [(11b*RS*)-2-benzoyl-1,2,3, 6,7, 11b-hexahydro-4*H*-pyrazino[2,1-*a*] isoquinolin-4-on] trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tạp chuẩn và pic praziquantel không nhỏ hơn 3,0.

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Tiêm dung dịch thử (1) và tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của praziquantel.

Trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1): diện tích của bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %), không được có quá 1 pic phụ có diện tích lớn hơn 0,4 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Bỏ qua bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; áp suất không quá 0,7 kPa; phosphor pentoxyd; 50 °C; 2 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng với các điều kiện như mô tả ở phần Tạp chất liên quan. Tiêm dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (1).

Tính hàm lượng $C_{19}H_{24}N_2O_2$ từ diện tích pic của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu và hàm lượng $C_{19}H_{24}N_2O_2$ của praziquantel chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc trị giun sán.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN PRAZIQUANTEL

Tabellae Praziquanteli

Là viên nén chứa praziquantel.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng praziquantel, $C_{19}H_{24}N_2O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Dung dịch chế phẩm trong phần thử độ hòa tan phải có phổ hấp thụ tử ngoại tương ứng với phổ của dung dịch praziquantel chuẩn và phải có một cực đại hấp thụ tại bước sóng $263 \text{ nm} \pm 1 \text{ nm}$.

B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic praziquantel trong sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* có chứa 2 mg *natri lauryl sulfat (TT)* trong 1 ml.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 60 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại $263 \text{ nm} \pm 1 \text{ nm}$, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch praziquantel chuẩn 0,06 % trong môi trường hòa tan. Tính ra lượng praziquantel, $C_{19}H_{24}N_2O_2$, hòa tan dựa vào các độ hấp thụ đo được và nồng độ $C_{19}H_{24}N_2O_2$ trong dung dịch chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng praziquantel so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - nước (60 : 40), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chính xác praziquantel chuẩn trong pha động để được dung dịch có nồng độ 0,18 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,15 g praziquantel cho vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động, lắc siêu âm 5 phút, thêm pha động đến định mức, lắc đều. Lọc. Pha loãng 3,0 ml dịch lọc thu được thành 25 ml bằng pha động, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng không được lớn hơn 1,5 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trên sắc ký đồ của các lần tiêm lặp lại không lớn hơn 1,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng praziquantel, $C_{19}H_{24}N_2O_2$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{19}H_{24}N_2O_2$ của praziquantel chuẩn.

Bảo quản

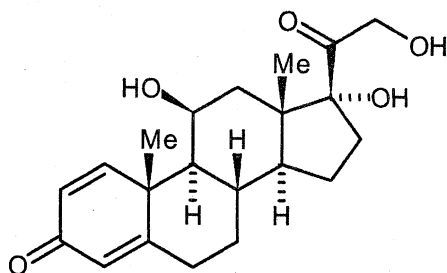
Trong đồ đựng kín, ở nhiệt độ dưới 30 °C.

Loại thuốc

Thuốc diệt giun sán.

Hàm lượng thường dùng

600 mg.

PREDNISOLON***Prednisolonum***

$C_{21}H_{28}O_5$

P.t.l: 360,4

Prednisolon là 11 β , 17, 21-trihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{21}H_{28}O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc hầu như trắng, dễ hút ẩm.

Rất khó tan trong nước, tan trong ethanol 96 % và methanol, hơi tan trong aceton và khó tan trong methylen clorid.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của prednisolon chuẩn. Nếu hai phổ hồng ngoại thu được không phù hợp, tiến hành hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong aceton (TT), bốc hơi trên nồi cách thủy đến khô và ghi lại phổ hồng ngoại của các căn mới thu được.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dicloromethan - methanol (9 : 1).

Dung môi hòa tan: Dicloromethan - methanol (9 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg prednisolon chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg hydrocortison chuẩn trong 10 ml dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để ngoài không khí cho khô và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử tương tự về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*, sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 10 phút hoặc cho đến khi các vết xuất hiện, để nguội rồi quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, và có huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại 365 nm, và cùng kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách rõ ràng.

Góc quay cực riêng

Từ +96° đến +102°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong dioxan (TT), và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Tiến hành đo ở 25 °C.

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trong bình định mức 1000 ml, trộn 220 ml tetrahydrofuran (TT) với 700 ml nước, trộn đều cẩn thận và để cho cân bằng. Pha loãng thành 1000,0 ml bằng nước và trộn đều.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong 2 ml tetrahydrofuran (TT) và pha loãng thành 10,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2 mg prednisolon chuẩn và 2 mg hydrocortison chuẩn trong pha động để được 100,0 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m $\times$ 4,6 mm) được nhồi octa-decylsilyl silica gel đã được khóa đầu (end-capped) (5 μ m).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Nhiệt độ cột: 45 °C

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột bằng pha động khoảng 30 phút. Tiêm dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ thu được phải không dưới 50 % thang đo.

Tiêm dung dịch phân giải. Khi sắc ký đồ ghi được trong điều kiện trên thì thời gian lưu của prednisolon khoảng 14 phút và của hydrocortison khoảng 15,5 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic hydrocortison và prednisolon ít nhất là 2,2. Nếu cần thiết, có thể điều chỉnh tỉ lệ của *tetrahydrofuran* (TT) trong pha động.

Tiêm lần lượt theo thứ tự dung môi pha động (mẫu trắng), dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp 4,5 lần thời gian lưu của pic chính. Trong sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (1,0 %). Chỉ được phép 1 pic phụ có diện tích lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 2,0 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (2,0 %). Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Hút 1,0 ml dung dịch này, thêm *ethanol* 96 % (TT) vừa đủ 100,0 ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này ở bước sóng cực đại 243,5 nm. Tính hàm lượng $C_{21}H_{28}O_5$ theo giá trị A (1 %, 1 cm) lấy 415 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 243,5 nm.

Bảo quản

Trong chai lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc corticosteroid.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN PREDNISOLON

Tabellae Prednisoloni

Là viên nén chứa prednisolon.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng của prednisolon, $C_{21}H_{28}O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên với *aceton* (TT), lọc và bay hơi dịch lọc đến khô. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của prednisolon.

B. Trong phần Tạp chất liên quan, vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí và màu sắc tương ứng với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dicloromethan - ether - methanol - nước (77 : 15 : 8 : 1,2).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với 50 mg prednisolon với 25 ml *cloroform* (TT), lọc và bay hơi dịch lọc tới còn khoảng 10 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 50 thể tích với hỗn hợp *cloroform* - *methanol* (1 : 1).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha dung dịch prednisolon chuẩn trong *cloroform* (TT) để có nồng độ khoảng 5 mg/ml.

Cách tiến hành:

Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Sấy bản mỏng 10 phút ở 105 °C, để nguội và phun *dung dịch xanh tetrazolium* (TT). Bằng cả hai cách quan sát nói trên, bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, được dung dịch thử.

Tiến hành xác định lượng prednisolon hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký như mô tả phần Định lượng. So sánh với một dung dịch chuẩn prednisolon pha trong nước có nồng độ tương đương, có thể dùng một lượng nhỏ *methanol* (TT) (không quá 5 % thể tích) để hòa tan chuẩn trước khi hòa loãng với nước.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % lượng prednisolon, $C_{21}H_{28}O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol* - nước (58 : 42).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 0,005 % prednisolon chuẩn và 0,0075 % dexamethason chuẩn trong hỗn hợp *methanol* - nước (58 : 42).

Dung dịch thử (1): Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 5 mg prednisolon vào bình định mức 100 ml, thêm 58 ml *methanol* (TT) lắc trong 10 phút, thêm nước đến định mức, lắc đều, lọc.

Dung dịch thử (2): Tiến hành như dung dịch thử (1) nhưng thêm 10 ml dung dịch dexamethason 0,075 % trong *methanol* (TT) và 48 ml *methanol* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ phân giải giữa hai pic prednisolon và dexamethason phải lớn hơn 2,5. Số đĩa lý thuyết tính trên pic prednisolon, phải lớn hơn 15 000/m.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng prednisolon, $C_{21}H_{28}O_5$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{21}H_{28}O_5$ của prednisolon chuẩn.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

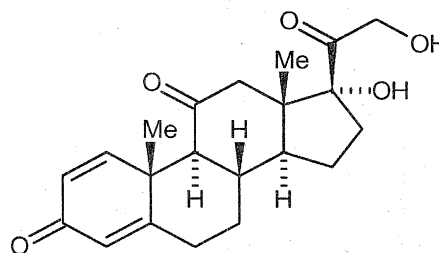
Corticosteroid.

Hàm lượng thường dùng

5 mg.

PREDNISON

Prednisonum



$C_{21}H_{26}O_5$

P.t.l: 358,4

Prednison là 17,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,11,20-trion; phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{21}H_{26}O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh đa hình, trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 % và methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của prednison chuẩn. Nếu hai phổ có sự khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong thể tích tối thiểu *aceton* (TT), bốc hơi dung môi trên cách thủy đến khô, lấy các cặn ghi phổ lại.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: Nước - *methanol* - ether - methylen clorid (1,2 : 8 : 15 : 77).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp *methanol* - methylen clorid (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg prednison chuẩn trong hỗn hợp *methanol* - methylen clorid (1 : 9) và pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg betamethason chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phun lên bản mỏng dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT), sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 10 phút hay đến khi xuất hiện vết, để nguội và quan sát dưới ánh sáng thường và tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng

thường và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại, và kích thước với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách rõ ràng.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Nước - methanol - ether - methylen clorid (1,2 : 8 : 15 : 77).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25 mg chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 5 ml bằng cùng dung môi (dung dịch A). Pha loãng 2 ml dung dịch A thành 10 ml bằng methylen clorid (TT).

Dung dịch thử (2): Lấy 0,4 ml dung dịch A cho vào một ống thủy tinh (100 mm x 20 mm) có nút mài hay có nắp polytetrafluoroethylen và làm bay hơi dung môi bằng cách đun nóng nhẹ dưới luồng khí nitrogen. Thêm 2 ml dung dịch acid acetic 15 % (tt/tt) và 50 mg natri bismuthat (TT). Đậy nút ống và lắc hỗn dịch bằng máy lắc cơ học 1 giờ trong điều kiện tránh ánh sáng. Thêm tiếp 2 ml dung dịch acid acetic 15 % (tt/tt) và lọc vào bình gạn 50 ml, rửa phễu lọc hai lần, mỗi lần với 5 ml nước. Lắc dịch lọc trong với 10 ml methylen clorid (TT). Rửa lớp dung môi hữu cơ với 5 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), sau đó bằng nước hai lần, mỗi lần với 5 ml. Loại nước bằng natri sulfat khan (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg prednison chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 5 ml bằng cùng dung môi (dung dịch B). Pha loãng 2 ml dung dịch B thành 10 ml bằng methylen clorid (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Chuẩn bị giống dung dịch thử (2) nhưng thay 0,4 ml dung dịch A bằng 0,4 ml dung dịch B.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1); 50 µl dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2), chấm hai dung dịch cuối từng lượng nhỏ một để được những vết nhỏ. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của các dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu tương ứng. Phun lên bản mỏng dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT), sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 10 phút hay đến khi xuất hiện vết, để nguội và quan sát dưới ánh sáng thường và tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của các dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng thường và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại, và kích thước với vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu tương ứng. Các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có R_f cao hơn hẳn R_f của các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

D. Cho khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml acid sulfuric (TT) và lắc để hòa tan. Trong vòng 5 phút, màu vàng xuất hiện cùng với huỳnh quang xanh lam dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Đồ dung dịch này vào 10 ml nước và lắc đều, màu bị nhạt dần nhưng huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại không bị mất đi.

Góc quay cực riêng

Từ +167° đến +175°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong dioxan (TT) và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng dung môi để đo.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Trong bình định mức 1000 ml, trộn 100 ml acetonitril (TT) với 200 ml methanol (TT) và 650 ml nước, để yên cho cân bằng, thêm nước đến vạch và lắc đều.

Pha động B: Acetonitril (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2 mg prednison chuẩn và 2 mg prednisolon chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m x 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C dùng cho sắc ký (5 µm). Cột được duy trì ở nhiệt độ 45 °C.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 2,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình gradient tuyến tính như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0	100	0	Đẳng dòng.
25	100	0	Bắt đầu gradient tuyến tính.
40	40	60	Kết thúc sắc ký, chuyển sang 100 B.
41	0	100	Bắt đầu chạy với B.
46	0	100	Kết thúc chạy với B, quay lại chạy 100 A.
47	100	0	Bắt đầu cân bằng cột với A.
52=0	100	0	Kết thúc cân bằng cột, bắt đầu mũi tiêm tiếp theo.

Cân bằng cột ít nhất 30 phút với pha động B, sau đó với pha động A 5 phút. Để tiến hành mũi tiêm tiếp theo dùng điều kiện đã ghi trong bảng trên từ phút 40,0 đến phút 52,0. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống

sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu không dưới 50 % thang đo.

Tiêm dung dịch phân giải, với điều kiện sắc ký ở trên, thời gian lưu của pic prednison khoảng 19 phút và của pic prednisolon khoảng 23 phút. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic prednison và pic prednisolon ít nhất là 2,7. Nếu cần điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động A.

Tiêm mẫu trắng là *methanol* (TT), dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: diện tích của bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được lớn hơn 0,25 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (0,25 %), tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 0,75 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (0,75 %). Bỏ qua các pic ứng với pic của mẫu trắng và pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng *ethanol* 96 % (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 238 nm. Tính hàm lượng $C_{21}H_{26}O_5$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 425 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 238 nm.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

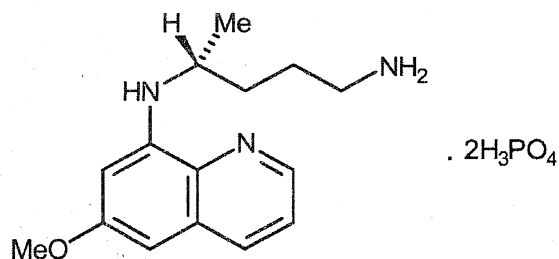
Corticosteroid.

Chế phẩm

Viên nén.

PRIMAQUIN DIPHOSPHAT

Primaquini diphosphas



$C_{15}H_{21}N_3O_2 \cdot 2H_3PO_4$

P.t.l: 455,3

Primaquin diphosphat là (4RS)-N⁴-(6-methoxy-quinolin-8-yl)pentan-1,4-diamin diphosphat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{15}H_{21}N_3O_2 \cdot 2H_3PO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu da cam.

Tan trong nước, thực tế không tan trong *ethanol* 96 % và trong ether.

Chảy ở khoảng 200 °C kèm theo phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C, D.

Nhóm II: B, D.

A. Hòa tan 15 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrochloric* 0,01 M (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch này trong khoảng bước sóng từ 310 nm đến 450 nm phải cho 2 cực đại hấp thụ ở 332 nm và 415 nm. Độ hấp thụ riêng ở các cực đại này lần lượt là từ 45 đến 52 và từ 27 đến 35. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng *dung dịch acid hydrochloric* 0,01 M (TT). Phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch pha loãng này trong khoảng bước sóng từ 215 nm đến 310 nm phải cho 3 cực đại hấp thụ ở 225 nm, 265 nm và 282 nm. Độ hấp thụ riêng ở các cực đại này lần lượt là từ 495 đến 515, từ 335 đến 350 và từ 330 đến 345.

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của primaquin diphosphat chuẩn. Chuẩn bị đĩa mẫu để đo như sau: Hòa tan riêng biệt 0,1 g chế phẩm và 0,1 g chất chuẩn trong 5 ml nước, thêm 2 ml *dung dịch amoniac* 2 M (TT), 5 ml *methylen clorid* (TT) và lắc. Làm khan lớp *methylen clorid* bằng cách lọc qua 0,5 g *natri sulfat khan* (TT). Chuẩn bị đĩa mẫu trắng dùng 0,3 g *kali bromid* (TT). Nhỏ từng giọt một 0,1 ml lớp *methylen clorid* lên đĩa, để *methylen clorid* bốc hơi hết giữa các lần nhỏ, rồi làm khô đĩa ở 50 °C trong 2 phút.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel* GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: *Amoniac đậm đặc* - *methanol* - *cloroform* (1 : 40 : 60).

Phép thử được tiến hành càng nhanh càng tốt trong điều kiện tránh ánh sáng. Dung dịch thử và chuẩn chỉ pha trước khi dùng.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong 5 ml nước và pha loãng thành 10 ml với *methanol* (TT). Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích gồm nước và *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg primaquin diphosphat chuẩn trong 5 ml nước và pha loãng thành 10 ml với *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Rửa bản mỏng trước bằng dung môi khai triển. Để bản mỏng khô ngoài không khí. Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên và triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu.

D. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml nước, thêm 2 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT) và chiết 2 lần, mỗi lần với 5 ml methylen clorid (TT). Lọc nước, sau khi đã acid hóa bằng acid nitric (TT), phải cho phản ứng B của phosphat (Phụ lục 9.4.12).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Amoniac đậm đặc - methanol - cloroform - hexan (0,1 : 10 : 45 : 45).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi. Thêm 0,2 ml amoniac đậm đặc (TT) vào 1,0 ml dung dịch này và lắc với 10,0 ml pha động. Dùng lớp dịch trong phía dưới.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg primaquin diphosphat chuẩn trong nước và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi. Thêm 0,2 ml amoniac đậm đặc (TT) vào 1,0 ml dung dịch này và lắc với 10,0 ml pha động. Dùng lớp dịch trong phía dưới.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 3,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng tiếp 1,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột (20 cm × 4,6 mm) được nhồi silica gel dùng cho sắc ký (10 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 261 nm.

Tốc độ dòng: 3,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Tiêm mỗi dung dịch trên và ghi lại sắc ký đồ trong thời gian tối thiểu gấp đôi thời gian lưu của primaquin. Phép thử chỉ có giá trị khi trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) ngay trước pic chính là một pic có diện tích pic vào khoảng 6 % của diện tích pic chính và độ phân giải giữa hai pic này không nhỏ hơn 2,0; trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), tỷ số giữa tín hiệu của pic chính và độ nhiễu đường nền không nhỏ hơn 5. Trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (3,0 %). Loại bỏ pic của dung môi và các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 40 ml acid acetic khan (TT), bằng đun nóng nhẹ. Để nguội và chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 22,77 mg C₁₅H₂₁N₃O. 2H₃PO₄.

Bảo quản

Bảo quản tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Trị sốt rét.

VIÊN NÉN PRIMAQUIN DIPHOSPHAT

Tabellae Primaquini diphosphas

Là viên nén chứa primaquin diphosphat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng primaquin diphosphat,

C₁₅H₂₁N₃O.2H₃PO₄, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với 10 mg primaquin diphosphat với 5 ml nước, lọc. Thêm vào dịch lọc thu được 1 ml dung dịch ceri amoni sulfat 5 % trong acid nitric loãng, dung dịch có màu tím đậm.

B. Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với 50 mg primaquin diphosphat với 5 ml nước, lọc. Thêm vào dịch lọc thu được 2 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), lọc. Trung tính hóa dịch lọc bằng dung dịch acid nitric loãng (TT), dung dịch thu được cho phản ứng đặc trưng của phosphat (Phụ lục 8.1).

C. Lắc kỹ một lượng bột viên với dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT) để thu được dung dịch có nồng độ primaquin diphosphat khoảng 15 µg/ml, lọc. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được phải có cực đại hấp thụ ở bước sóng 265 nm và 282 nm.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 60 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu; pha loãng với môi trường hòa tan (nếu cần). Xác định hàm

lượng primaquin diphosphat được hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). So sánh với dung dịch pri-maquin diphosphat chuẩn có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan.

Pha động: *Methanol* - dung dịch natri pentansulfonat (60:40) (có thể điều chỉnh tỷ lệ cho thích hợp).

Dung dịch natri pentansulfonat: Hòa tan 961 mg natri pentansulfonat (TT) và 1 ml acid acetic băng (TT) vào 400 ml nước, trộn đều, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (30 cm × 3,9 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trên sắc ký đồ từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 3,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Tính hàm lượng primaquin diphosphat, $C_{15}H_{21}N_3O_2 \cdot 2H_3PO_4$, được hòa tan trong mỗi viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{15}H_{21}N_3O_2 \cdot 2H_3PO_4$ của primaquin diphosphat chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng primaquin diphosphat so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 phút.

Định lượng

Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,2 g primaquin diphosphat vào một cốc có mỏ, thêm 50 ml nước và khoảng 5 ml acid hydrocloric (TT). Tiến hành chuẩn độ bằng dung dịch natri nitrit 0,05 M (CĐ) theo Phương pháp chuẩn độ bằng nitrit (Phụ lục 10.4).

1 ml dung dịch natri nitrit 0,05 M (CĐ) tương đương với 22,77 mg $C_{15}H_{21}N_3O_2 \cdot 2H_3PO_4$.

Bảo quản

Trong bao bì kín tránh ánh sáng, để nơi khô mát.

Loại thuốc

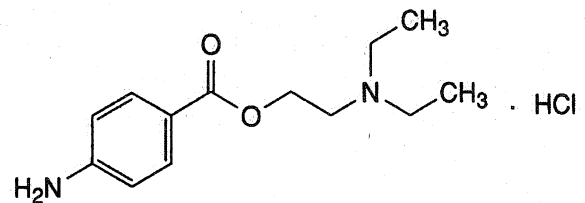
Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

13,2 mg primaquin diphosphat (tương ứng với 7,5 mg primaquin base).

PROCAIN HYDROCLORID

Procaini hydrochloridum



$C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$

P.t.l: 272,8

Procain hydroclorid là 2-(diethylamino)ethyl-4-amino-benzoat hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng.

Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %, hơi tan trong cloroform, thực tế không tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C, D, E, F.

Nhóm II: A, B, E.

A. Điểm chảy: 154 °C đến 158 °C (Phụ lục 6.7).

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của procain hydroclorid chuẩn.

C. Lấy khoảng 5 mg chế phẩm, thêm 0,5 ml acid nitric bốc khói (TT), bốc hơi cho tới khô trên cách thủy. Để nguội rồi hòa tan cẩn trọng 5 ml aceton (TT), thêm 1 ml dung dịch kali hydroxyd 0,1 M trong ethanol (TT). Chỉ có màu đỏ nâu xuất hiện.

D. Lấy 0,2 ml dung dịch S, thêm 2 ml nước, 0,5 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT), lắc và thêm 1 ml dung dịch kali permanganat 0,1 %. Màu biến mất ngay.

E. Chế phẩm cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

F. Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 100 ml bằng nước. 2 ml dung dịch này cho phản ứng đặc trưng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 50 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Pha loãng 4 ml dung dịch S thành 10 ml với nước không có carbon dioxyd (TT). pH của dung dịch này từ 5,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Dibutyl ether - hexan - acid acetic băng (80 : 16 : 4)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg *acid 4-aminobenzoic* trong nước và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 10 ml với nước.

Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm, lấy bản mỏng ra và làm khô ở 105 °C trong 10 phút. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (0,05 %). Vết chính của dung dịch thử nằm trên đường xuất phát.

Kim loại nặng

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25,0 ml, lọc. Lấy 10 ml dịch lọc tiến hành theo phương pháp 5. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 50 ml *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)*, thêm 3 g *kali bromid (TT)*. Làm lạnh trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CD)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CD)* tương đương với 27,28 mg $C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$.

Bảo quản

Chế phẩm được bảo quản trong chai lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Gây tê cục bộ.

THUỐC TIÊM PROCAIN HYDROCLORID

Injectio Procaini hydrochloridi

Là dung dịch vô khuẩn của procain hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng procain hydroclorid, $C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

A. Bay hơi đến khô một thể tích chế phẩm tương đương với 30 mg procain hydroclorid trên cách thủy. Tiếp tục làm khô cần trong bình hút ẩm với silica gel trong 18 giờ. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cần phải phù hợp với phổ hồng ngoại của procain hydroclorid chuẩn.

B. Hòa tan 10 mg cần thu được ở mục A trong 1 ml nước, thêm 1 giọt *acid hydrochloric (TT)* và 1 giọt *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*, sau 1 phút đến 2 phút thêm 1 ml *dung dịch 2-naphtol trong kiềm (TT)*, lắc đều, sẽ có tua màu đỏ.

C. Dung dịch chế phẩm phải cho các phản ứng của clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 3,0 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Acid 4-aminobenzoic

Không được quá 1,2 %.

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel H* và *natri carboxymethylcellulose*.

Dung môi khai triển: *Benzen - acid acetic băng - acetone-methanol (14 : 1 : 1 : 4)*.

Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có chứa 2,5 mg procain hydroclorid trong 1 ml.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch *acid 4-aminobenzoic (TT)* trong *ethanol (TT)* chứa 30 µg trong 1 ml.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng để khô ngoài không khí và phun *dung dịch p-dimethylamino benzaldehyd* (hỗn hợp của 100 ml *dung dịch p-dimethylamino benzaldehyd 2 % trong ethanol (TT)* và 5 ml *acid acetic băng (TT)*). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, vết tương ứng với acid 4-aminobenzoic không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương đương với 0,2 g procain hydroclorid, thêm 50 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)*, 3 g *kali bromid (TT)*. Làm lạnh trong nước đá đến nhiệt độ khoảng 10 °C đến 15 °C. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri nitrit 0,05 M (CD)* (Phụ lục 10.4). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,05 M (CD)* tương đương với 13,64 mg $C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$.

Bảo quản

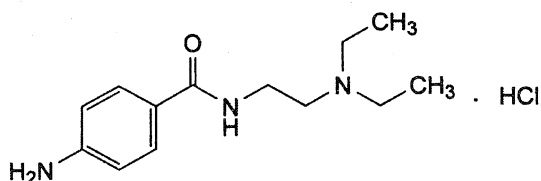
Bảo quản trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Gây tê tại chỗ, gây tê cột sống.

Hàm lượng thường dùng

1 %, 2 %, 5 %.

PROCAINAMID HYDROCLORID***Procainamidi hydrochloridum***

$C_{13}H_{21}N_3O \cdot HCl$

P.t.l: 271,8

Procainamid hydroclorid là 4-amino-N-[2-(diethyl-amino)ethyl]-benzamid hydroclorid, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{13}H_{21}N_3O \cdot HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hay vàng rất nhạt, dễ hút ẩm. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, khó tan trong aceton, thực tế không tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: C, D.

Nhóm II: A, B, D, E.

A. Điểm chảy: 166 °C đến 170 °C (Phụ lục 6.7).

B. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch này từ 220 nm đến 350 nm cho một cực đại hấp thụ ở bước sóng 273 nm. A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại phải từ 580 đến 610.

C. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của procainamid hydroclorid chuẩn.

D. Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 5 ml với *nước*. Dung dịch này cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

E. Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 2 ml bằng *nước*. 1 ml dung dịch này cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không đậm hơn màu mẫu N_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Dung dịch S phải có pH từ 5,6 đến 6,3 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,5 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - butanol (15 : 30 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 200 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm. Để khô bản mỏng trong luồng không khí lạnh. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Trên sắc ký đồ, bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử cũng không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 27,18 mg $C_{13}H_{21}N_3O \cdot HCl$.

Bảo quản

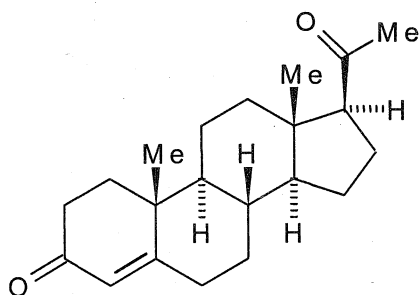
Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống loạn nhịp.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén.

PROGESTERON***Progesteronum*** $C_{21}H_{30}O_2$

P.t.l: 314,5

Progesteron là pregn-4-en-3,20-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{21}H_{30}O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng.

Thực tế không tan trong nước, rất dễ tan trong cloroform, dễ tan trong ethanol, hơi tan trong aceton, ether và dầu béo.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của progesteron chuẩn. Nếu hai phổ không phù hợp nhau thì tiến hành hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chuẩn trong *ethanol* (TT), bốc hơi đến khô và ghi phổ mới từ cần thu được.

B. Điểm chảy: 128 °C đến 132 °C (Phụ lục 6.7).

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (66 : 33).

Dung môi hòa tan: Cloroform - methanol (9 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong dung môi hòa tan để được 10 ml.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg progesteron chuẩn trong dung môi hòa tan để được 10 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, để bản mỏng khô ngoài không khí rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol* (TT), sấy ở 120 °C trong 15 phút, để nguội rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm và dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước dưới ánh sáng ban ngày; phát huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại 365 nm khi so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Góc quay cực riêng

Từ +186° đến +194°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *ethanol* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (66 : 33).

Dung môi hòa tan: Cloroform - methanol (9 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong dung môi hòa tan để được 10 ml.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng dung môi hòa tan.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, để bản mỏng khô ngoài không khí và phun lên bản mỏng *dung dịch bão hòa kali dicromat* trong hỗn hợp gồm *nước - acid sulfuric* (3 : 7). Sấy ở 130 °C trong 30 phút rồi để nguội. Bất cứ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(0,50 g; 100 °C đến 105 °C; 2 h).

Định lượng

Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) vừa đủ 250,0 ml. Lấy 5,0 ml dung dịch này, thêm *ethanol* 96 % (TT) vừa đủ 50,0 ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này ở bước sóng cực đại 241 nm.

Tính hàm lượng $C_{21}H_{30}O_2$ theo giá trị A (1 %, 1 cm) lấy 535 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 241 nm.

Bảo quản

Trong chai lọ thật kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Hormon progestin.

Chế phẩm

Thuốc tiêm dạng dầu để tiêm bắp, gel bôi âm đạo.

NANG MỀM PROGESTERON***Molles capsulae Progesteroni***

Là nang mềm chứa progesteron.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nang” (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng progesteron, $C_{21}H_{30}O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang mềm, màu đồng nhất.

Định tính

Chèn một miếng bông thủy tinh vào đáy của cột sắc ký có chiều dài khoảng 20 cm và đường kính khoảng 2,5 cm. Trộn đều 8 ml *nitromethan* (TT) với khoảng 7 g *silica gel dùng cho sắc ký cột* trong một cốc có mỏ 150 ml cho đến khi đồng nhất, chuyển khối *silica gel* này vào trong cột sắc ký, dùng một đĩa thủy tinh thích hợp gõ nhẹ để nén khối *silica gel*. Đặt một miếng bông thủy tinh lên trên bề mặt khối *silica gel*. Hòa tan 1 lượng dịch chứa trong nang với *n-heptan* (TT) để thu được dung dịch có nồng độ progesteron khoảng 1 mg/ml. Chuyển 4 ml dung dịch trên vào cột sắc ký đã nhồi, rót từ từ 300 ml *n-heptan* (TT) qua cột, loại bỏ khoảng 120 ml dịch sắc ký ban đầu. Tập trung dịch sắc ký còn lại vào trong một cốc có mỏ 250 ml. Bốc hơi dung môi dưới dòng khí nitrogen trên nồi cách thủy đến khi còn khoảng 50 ml, chuyển dung dịch còn lại vào cốc có mỏ 100 ml và bốc hơi dung môi đến khô. Loại bỏ hoàn toàn vết *n-heptan* bằng cách thêm 1 ml *methanol* (TT) và bốc hơi đến khô. Để khô cần trong bình hút ẩm chứa *silica gel* trong 4 giờ.

Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cần phải phù hợp với phổ hồng ngoại của progesteron chuẩn được điều chế như trên.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Ethanol* 96 % - nước (11 : 9).

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng thuốc trong nang tương đương khoảng 100 mg progesteron vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *tetrahydrofuran* (TT) để hòa tan, thêm *ethanol* (TT) đến định mức. Hút chính xác 8,0 ml dung dịch trên vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng *ethanol* 96 % (TT) đến định mức, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg progesteron chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 10 ml *tetrahydrofuran* (TT) để hòa tan, thêm *ethanol* 96 % (TT) đến vạch. Hút chính xác 8,0 ml dung dịch trên vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng *ethanol* 96 % (TT) đến định mức, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm), được nhồi pha tinh C (5 μm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Tiến hành sắc ký với dimethyl sulfoxid và xác định thời gian lưu t_R của pic chất không lưu giữ này. Tiến

hành sắc ký dung dịch chuẩn và ghi lại sắc ký đồ. Thừa số dung lượng k' đối với progesteron không được ít hơn 2,0, hệ số đối xứng không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic đáp ứng từ các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng progesteron, $C_{21}H_{30}O_2$, trong nang dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{21}H_{30}O_2$ của progesteron chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Hormon progestin.

Hàm lượng thường dùng

100 mg, 200 mg.

THUỐC TIÊM PROGESTERON***Injectio Progesteroni***

Thuốc tiêm progesteron là dung dịch vô khuẩn của progesteron trong dung môi thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng progesteron, $C_{21}H_{30}O_2$, phải đạt từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

Chèn một miếng bông thủy tinh vào đáy của cột sắc ký có chiều dài khoảng 20 cm và đường kính khoảng 2,5 cm. Trộn đều 8 ml *nitromethan* (TT) với khoảng 7 g *silica gel dùng cho sắc ký cột* trong một cốc có mỏ 150 ml cho đến khi đồng nhất, chuyển khối *silica gel* này vào trong cột sắc ký, dùng một đĩa thủy tinh thích hợp gõ nhẹ để nén khối *silica gel*. Đặt một miếng bông thủy tinh lên trên bề mặt khối *silica gel*. Pha loãng một lượng dung dịch chế phẩm với *n-heptan* (TT) để thu được dung dịch có nồng độ progesteron khoảng 1 mg/ml. Chuyển 4 ml dung dịch trên vào cột sắc ký đã nhồi, rót từ từ 300 ml *n-heptan* (TT) qua cột, loại bỏ khoảng 120 ml dịch sắc ký ban đầu. Tập trung dịch sắc ký còn lại vào trong một cốc có mỏ 250 ml. Bốc hơi dung môi dưới dòng khí nitrogen trên nồi cách thủy đến khi còn khoảng 50 ml, chuyển dung dịch còn lại vào cốc có mỏ 100 ml và bốc hơi dung môi đến khô. Loại bỏ hoàn toàn vết *n-heptan* bằng cách thêm 1 ml *methanol* (TT) và bốc hơi đến khô. Để khô cần trong bình hút ẩm chứa *silica gel* trong 4 giờ.

Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cần phải phù hợp với phổ hồng ngoại của progesteron chuẩn được điều chế như trên.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: Ethanol 96 % - nước (11 : 9).

Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương đương khoảng 100 mg progesteron vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *tetrahydrofuran* (TT) để hòa tan, thêm ethanol 96 % (TT) đến định mức. Hút chính xác 8,0 ml dung dịch trên vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng ethanol 96 % (TT) đến định mức, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg progesteron chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 10 ml *tetrahydrofuran* (TT) để hòa tan, thêm ethanol 96 % (TT) đến định mức, trộn đều. Hút chính xác 8,0 ml dung dịch trên vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng ethanol 96% (TT) đến định mức, trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dimethyl sulfoxid và xác định thời gian lưu t_0 của pic chất không lưu giữ này. Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và ghi lại pic đáp ứng. Thừa số dung lượng k' đối với progesteron không được ít hơn 2,0, hệ số đối xứng không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic đáp ứng từ các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng progesteron, $C_{21}H_{30}O_2$, dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{21}H_{30}O_2$ của progesteron chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

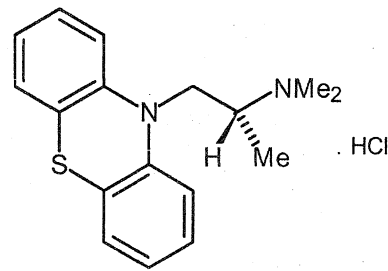
Hormon progestin.

Hàm lượng thường dùng

50 mg/ml.

PROMETHAZIN HYDROCLORID

Promethazini hydrochloridum



$C_{17}H_{20}N_2S \cdot HCl$

P.t.l: 320,9

Promethazin hydroclorid là (2*RS*)-*N,N*-dimethyl-1-10*H*-phenothiazin-10-yl) propan-2-amin hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{17}H_{20}N_2S \cdot HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng.

Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 % và dicloromethan.

Chảy ở nhiệt độ 222 °C, kèm theo phân hủy.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của promethazin hydroclorid chuẩn hoặc với phổ hồng ngoại đối chiếu của promethazin hydroclorid.

B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 3 ml nước, thêm 1 ml acid nitric đậm đặc (TT), xuất hiện tủa và nhanh chóng hòa tan tạo ra dung dịch màu đỏ, chuyển sang màu vàng da cam và sau đó màu vàng. Đun nóng, dung dịch chuyển thành màu vàng da cam và xuất hiện tủa màu đỏ da cam.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) để được 10 ml. pH của dung dịch này đo ngay sau khi pha phải từ 4,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Tiến hành theo phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - aceton - ethanol 96 % - amoniac đậm đặc (90 : 45 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Chứa 10 mg chế phẩm trong 1 ml dicloromethan (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Chứa 0,2 mg chế phẩm trong 1 ml dicloromethan (TT) (2 %).

Dung dịch đối chiếu (2): Chứa 0,1 mg chế phẩm trong 1 ml dicloromethan (TT) (1 %).

Dung dịch đối chiếu (3): Chứa 0,05 mg chế phẩm trong 1 ml dicloromethan (TT) (0,5 %).

Dung dịch đối chiếu (4): Chứa 0,025 mg chế phẩm trong 1 ml *dicloromethan* (TT) (0,25 %).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký được 10 cm. Để khô ngoài không khí và quan sát ngay dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được đậm màu hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1 %). Tổng các tạp chất không được lớn hơn 2,0 %.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,350 g chế phẩm trong hỗn hợp 35 ml *acid acetic* băng (TT) và 5 ml *dung dịch thủy ngân* (II) *acetat* 5 % (TT), thêm 1 giọt *dung dịch tím tinh thể* (TT). Định lượng bằng *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CD) (Phụ lục 10.6) đến khi màu chuyển sang xanh lục. Song song tiến hành mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CD) tương đương với 32,09 mg $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$.

Bảo quản

Đựng trong bình thật kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng histamin (chống dị ứng) và giảm đau.

Chế phẩm

Thuốc viên, thuốc tiêm, siro.

VIÊN NÉN PROMETHAZIN HYDROCLORID

Tabellae Promethazini hydrochloridi

Là viên bao chứa promethazin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” mục “Viên bao” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng promethazin hydroclorid, $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao phải nhẵn, không nứt cạnh, không dính tay, đồng đều về màu sắc.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 40 mg promethazin hydroclorid, thêm 10 ml *nước* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd* 10 M (TT). Lắc đều và chiết với 15 ml *ether* (TT). Rửa lớp *ether* với 5 ml *nước*. Lọc dịch chiết *ether* qua *natri sulfat khan* (TT), bay

hơi dịch chiết *ether*. Hòa lẫn thu được trong 0,4 ml *cloroform* (TT). Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của promethazin.

B. Lấy một lượng bột viên tương đương với khoảng 5 mg promethazin hydroclorid, thêm 5 ml *acid sulfuric* (TT) và để yên 5 phút, xuất hiện màu đỏ.

C. Hòa tan một lượng bột viên tương đương 0,2 g promethazin hydroclorid trong 2 ml *nước*, lọc. Bảo hòa dịch lọc thu được bằng *kali carbonat* (TT). Chiết 2 lần, mỗi lần với 10 ml *ether* (TT). Bay hơi dịch chiết đến khô, hòa tan lẫn trong 2 ml *methanol* (TT). Rót dung dịch thu được vào một dung dịch chứa 0,4 g *acid picric* (TT) trong 10 ml *methanol* (TT) ở nhiệt độ 50 °C. Để nguội, dùng đũa thủy tinh cọ vào thành ống nghiệm để tạo tủa, để yên 3 giờ đến 4 giờ và lọc. Các tinh thể thu được, sau khi rửa bằng *methanol* (TT) và làm khô, có nhiệt độ nóng chảy khoảng 160 °C.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric* 0,01 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu và pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric* 0,01 M (TT) để được dung dịch có nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 249 nm, dùng *dung dịch acid hydrocloric* 0,01 M (TT) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng promethazin hydroclorid, $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 910 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 249 nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % lượng promethazin hydroclorid so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Cân 20 viên (đã loại bỏ lớp bao, nếu cần), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 25 mg promethazin hydroclorid, chuyển vào một cối nhỏ, thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric* 2 M (TT) và nghiền kỹ. Dùng 100 ml *nước* chuyển vào bình định mức 250 ml, lắc 15 phút và thêm *nước* đến định mức. Trộn đều, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Lấy chính xác 5 ml dịch lọc chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric* 0,1 M (TT) và thêm *nước* đến định mức, trộn đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 249 nm $\pm$ 1 nm (Phụ lục 4.1), mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric* 0,01 M (TT).

Tính hàm lượng promethazin hydroclorid, $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 910 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 249 nm.

Bảo quản

Đề trong lọ kín ở nơi khô mát.

Loại thuốc

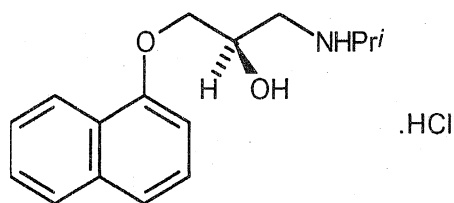
Kháng histamin (thụ thể H_1).

Hàm lượng thường dùng

15 mg và 25 mg.

PROPRANOLOL HYDROCLORID

Propranololi hydrochloridum



và đồng phân đối quang.

$C_{16}H_{21}NO_2.HCl$

P.t.l: 295,8

Propranolol hydroclorid là (2*RS*)-1-[(1-methylethyl)-amino]-3-(naphthalen-1-yloxy)propan-2-ol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{21}NO_2.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hay gần như trắng. Tan trong nước và trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của propranolol hydroclorid chuẩn.

B. Điểm chảy (Phụ lục 6.7): Từ 163 °C đến 166 °C.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - methanol (1 : 99).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 1 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg propranolol hydroclorid chuẩn trong 1 ml methanol (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy khô bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C và phun dung dịch anisaldehyd (TT). Sấy bản mỏng ở nhiệt độ

100 °C đến 105 °C đến khi các vết hiện rõ (khoảng 10 phút đến 15 phút). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Chế phẩm cho phản ứng A của phép thử Định tính ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu của dung dịch màu chuẩn số 6 có gam màu gần với gam màu của dung dịch chế phẩm nhất (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxid (TT) và pha loãng thành 20 ml bằng cùng dung môi. Thêm 0,2 ml dung dịch đỏ methyl (TT) và 0,2 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ), dung dịch có màu đỏ. Thêm 0,4 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ), dung dịch có màu vàng.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: 1,2-Dicloroethan - methanol - nước - acid formic (56 : 24 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 10 ml cloroform (TT) bằng cách làm nóng nếu cần thiết.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng cloroform (TT). Pha loãng tiếp 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng cloroform (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Để khô dung môi ngoài không khí. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được đậm màu hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp nước - methanol (15 : 85) và pha loãng thành 20 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi. Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 2. Chuẩn bị dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu bằng cách pha loãng dung dịch chỉ mẫu 100 phần triệu (TT) với hỗn hợp nước - methanol (15 : 85).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 25 ml *ethanol* 96 % (TT).
Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (CD).
Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ
đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (CD) tương đương
với 29,58 mg $C_{16}H_{22}ClNO_2$.

Bảo quản

Đựng trong đồ đựng kín.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN PROPRANOLOL

Tabellae Propranololi

Là viên nén chứa propranolol hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên
luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu
sau đây:

Hàm lượng propranolol hydroclorid, $C_{16}H_{21}NO_2.HCl$,
từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1)
của dung dịch thử trong khoảng 230 nm đến 350 nm có
các hấp thụ cực đại ở 290 nm, 306 nm và 319 nm.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

*Dung môi khai triển: Dicloroethan - methanol - nước -
acid formic (56 : 24 : 1 : 1).*

Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với
20 mg propranolol hydroclorid, thêm 10 ml *methanol*
(TT), lắc 10 phút, lọc. Sử dụng dịch lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch propranolol hydro-
clorid 0,2 % trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl
mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung
môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài
không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước
sóng 254 nm.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù
hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối
chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch acid hydro-
cloric* 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã
hòa tan mẫu thử, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Nếu cần,
pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được
dung dịch có nồng độ propranolol hydroclorid khoảng
10 µg/ml - 30 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của
dung dịch ở bước sóng khoảng 289 nm trong cốc đo dày
1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính hàm
lượng propranolol hydroclorid, $C_{16}H_{21}NO_2.HCl$, đã hòa
tan trong mỗi viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 207 là giá trị
A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 290 nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng propranolol
hydroclorid so với hàm lượng ghi trên nhãn được hòa
tan trong 30 phút.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Lấy 1 viên vào bình định mức 50 ml, thêm 1 ml *nước*,
lắc tới khi viên rã hoàn toàn, thêm 30 ml *methanol*
(TT), lắc trong 10 phút, pha loãng với *methanol* (TT)
vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu.
Pha loãng dịch lọc với *methanol* (TT) để thu được
dung dịch có nồng độ propranolol hydroclorid khoảng
20 µg/ml. Tiếp tục tiến hành như mô tả ở mục Định
lượng, bắt đầu từ “Đo độ hấp thụ của dung dịch...”.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và
nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột
viên tương ứng với khoảng 20 mg propranolol hydro-
clorid vào bình định mức 100 ml, thêm 2 ml *nước*, lắc
trong 5 phút. Thêm *methanol* (TT) vừa đủ đến vạch,
lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml
dịch lọc thành 50,0 ml với *methanol* (TT). Đo độ hấp
thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng
290 nm, trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là
methanol (TT).

Tính hàm lượng propranolol hydroclorid, $C_{16}H_{21}NO_2.HCl$,
trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 207 là giá trị A
(1 %, 1 cm) ở bước sóng 290 nm.

Bảo quản

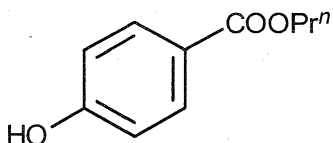
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chẹn beta-adrenergic.

Hàm lượng thường dùng

10 mg; 20 mg; 40 mg.

PROPYL PARAHYDROXYBENZOAT*Propylis parahydroxybenzoas***Propylparaben, Nipasol M** $C_{10}H_{12}O_3$

P.t.l: 180,2

Propyl parahydroxybenzoat là propyl 4-hydroxybenzoat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{10}H_{12}O_3$.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng. Rất ít tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 % và trong methanol.

Định tính

Chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của propyl parahydroxybenzoat chuẩn.

B. Điểm chảy: 96 °C đến 99 °C (Phụ lục 6.7).

C. Trên sắc ký đồ của phép thử Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2) phải có vị trí và kích thước tương tự với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

D. Lấy 10 mg chế phẩm vào ống nghiệm, thêm 1 ml dung dịch natri carbonat 10 % (TT), đun sôi trong 30 giây và để nguội (dung dịch A). Lấy 10 mg chế phẩm vào một ống nghiệm khác, thêm 1 ml dung dịch natri carbonat 10 % (TT), chỉ có một phần chế phẩm hòa tan (dung dịch B). Thêm cùng một lúc, 5 ml dung dịch aminopyrazolon (TT) và 1 ml dung dịch kali fericyanid (TT) vào dung dịch A và dung dịch B, trộn đều. Dung dịch B phải có màu vàng đến nâu da cam. Dung dịch A phải có màu da cam đến đỏ, màu này sẽ rõ và đậm hơn màu tương tự xuất hiện ở dung dịch B. Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong ethanol 96 % (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu của màu mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Lấy 2 ml dung dịch S, thêm 3 ml ethanol 96 % (TT), 5 ml nước không có carbon dioxid (TT) và 0,1 ml dung dịch lục bromocresol (TT₁). Dung dịch này phải chuyển sang màu xanh lam khi thêm không quá 0,1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel chứa chỉ thị huỳnh quang có huỳnh quang cực đại ở bước sóng 254 nm.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - methanol (1 : 30 : 70).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong acetone (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng acetone (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng acetone (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg propyl parahydroxybenzoat chuẩn trong acetone (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg ethyl parahydroxybenzoat chuẩn trong 1 ml dung dịch thử (1) và pha loãng thành 10 ml bằng acetone (TT).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 2 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính, không được đậm màu hơn vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho 2 vết tách rõ ràng.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Lấy 1,000 g chế phẩm, thêm 20,0 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (CD). Đun nóng ở 70 °C trong 1 giờ. Làm nguội nhanh trong nước đá. Chuẩn bị một mẫu trắng trong cùng điều kiện. Chuẩn độ natri hydroxyd thừa bằng dung dịch acid sulfuric 0,5 M (CD), tiếp tục chuẩn độ cho đến khi có điểm uốn thứ 2, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (CD) tương đương với 180,2 mg $C_{10}H_{12}O_3$.

Bảo quản

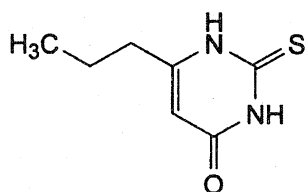
Trong bao bì kín.

Tác dụng

Chất bảo quản chống vi khuẩn.

PROPYLTHIOURACIL

Propylthiouracillum



$C_7H_{10}N_2OS$

P.t.l: 170,2.

Propylthiouracil là 2,3-dihydro-6-propyl-2-thioxopyrimidin-4(1H)-on, phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % $C_7H_{10}N_2OS$, tính theo chế phẩm đã sấy khô.

Tính chất

Tinh thể hay bột kết tinh màu trắng hay gần trắng. Rất khó tan trong nước và ether, hơi tan trong ethanol 96 %, tan trong các dung dịch kiềm hydroxyd.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phô hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phô hồng ngoại của propylthiouracil chuẩn. Chuẩn bị đĩa để đo bằng cách dùng 1 mg chế phẩm và 0,3 g kali bromid tinh khiết IR (TT).

B. Điểm chảy: 217 °C đến 221 °C (Phụ lục 6.7).

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng: Quan sát bản mỏng thu được ở phần thử Thioure và tạp chất liên quan dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm trước khi đặt vào bình bão hòa hơi iod. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải có vị trí và kích thước giống với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

D. Cho 8 ml nước brom (TT) vào 20 mg chế phẩm và lắc trong vài phút. Đun đến khi dung dịch mất màu, để nguội và lọc. Thêm vào dịch lọc 2 ml dung dịch bari clorid 6,1 % (TT), tủa trắng tạo thành. Tủa này không bị biến thành màu tím khi thêm 5 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT).

Thioure và tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - isopropanol - cloroform (0,1 : 6 : 50).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg propylthiouracil chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50 mg thioure trong methanol (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng methanol (TT).

Cách tiến hành:

Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Để bản mỏng vào bình bão hòa hơi iod trong 10 phút. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1), vết tương ứng với vết thioure không được đậm màu hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %), bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính và vết thioure không được đậm màu hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 6. Dùng 2 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Thêm 30 ml nước và 30,0 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) vào 0,300 g chế phẩm. Đun sôi và lắc đến khi tan hoàn toàn. Thêm 50 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ), vừa thêm vừa khuấy, đun sôi nhẹ 5 phút và để nguội. Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Thể tích dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) đã tiêu thụ là tổng thể tích của 30,0 ml đã cho vào ban đầu và thể tích tiêu thụ khi chuẩn độ.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) tương đương với 8,511 mg $C_7H_{10}N_2OS$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng giáp.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN PROPYLTHIOURACIL***Tabellae Propylthiouracili***

Là viên nén chứa propylthiouracil.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng propylthiouracil, $C_7H_{10}N_2OS$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương đương với khoảng 50 mg propylthiouracil với 20 ml *methanol* (TT). Lọc và bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn phải phù hợp với phổ hồng ngoại của propylthiouracil chuẩn.

B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic propylthiouracil trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Lấy một phần môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng một thể tích dịch lọc với nước (nếu cần) để có được nồng độ propylthiouracil khoảng 5 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 274 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng nước làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch chuẩn propylthiouracil có nồng độ tương đương pha trong nước.

Tính lượng propylthiouracil, $C_7H_{10}N_2OS$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào các độ hấp thụ đo được và nồng độ propylthiouracil của dung dịch chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 85 % lượng propylthiouracil, $C_7H_{10}N_2OS$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Dung dịch đệm phosphat 0,025 M: Cân chính xác 3,40 g kali dihydrophosphat (TT) vào trong một cốc có mô dung tích 1000 ml, thêm 500 ml nước, khuấy cho tan hoàn toàn, điều chỉnh đến pH 4,6 bằng acid phosphoric (TT) hoặc dung dịch natri hydroxyd 0,1 M, thêm nước vừa đủ 1000 ml, trộn đều, lọc.

Pha động: Dung dịch đệm phosphat 0,025 M - acetonitril (80 : 20).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 25 mg propylthiouracil chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 5 ml *methanol* (TT), siêu âm trong 5 phút để hòa tan, thêm 25 ml nước và lắc trong 15 phút, thêm nước đến vạch, lắc đều. Lấy chính xác 10 ml dịch trên cho vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng nước đến định mức, lắc đều.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương đương với khoảng 50 mg propylthiouracil vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *methanol* (TT), siêu âm trong 5 phút để hòa tan, thêm 50 ml nước và lắc trong 20 phút, thêm nước đến định mức. Lắc đều, lọc. Lấy chính xác 10 ml dịch lọc thu được cho vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng nước đến vạch, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 272 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hiệu năng của cột được xác định từ pic propylthiouracil, số đĩa lý thuyết không được ít hơn 3500, hệ số đối xứng thu được từ pic propylthiouracil không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trên sắc ký đồ từ các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Tính hàm lượng propylthiouracil, $C_7H_{10}N_2OS$, dựa vào diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_7H_{10}N_2OS$ trong propylthiouracil chuẩn.

Bảo quản

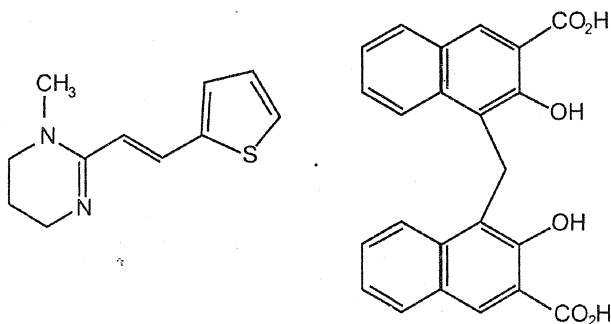
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng giáp.

Hàm lượng thường dùng

25 mg, 50 mg.

PYRANTEL PAMOAT*Pyranteli pamoatum* $C_{11}H_{14}N_2S.C_{23}H_{16}O_6$

P.t.l: 594,7

Pyrantel pamoat là (E)-1,4,5,6-tetrahydro-1-methyl-2-[(E)-2-(thien-2-yl)vinyl]pyrimidin mono-[4,4'-methylenebis(3-hydroxy-2-naphthoat)], phải chứa không ít hơn 98,0 % $C_{11}H_{14}N_2S.C_{23}H_{16}O_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng nhạt đến vàng, không mùi, không vị. Hơi tan trong N,N-dimethylformamid, rất khó tan trong methanol và trong ethanol 95 %, thực tế không tan trong nước, ethyl acetat và ether.

Điểm chảy từ 256 °C đến 264 °C kèm theo phân hủy.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại của pyrantel pamoat chuẩn.

B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 50 ml N,N-dimethylformamid (TT) và pha loãng thành 200 ml bằng methanol (TT). Lấy 2 ml dung dịch này, thêm dung dịch acid hydrochloric trong methanol (9 trong 1000) để được 100 ml. Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 250 nm đến 450 nm phải giống với phổ tử ngoại của dung dịch pyrantel pamoat chuẩn được chuẩn bị tương tự.

C. Lấy 0,05 g chế phẩm, thêm 10 ml methanol (TT) và 1 ml hỗn hợp acid hydrochloric - methanol (1 : 1), lắc mạnh, tủa vàng tạo thành. Lọc, lấy dịch lọc để thử tiếp, tủa để tiến hành phép thử D. Cho 1 ml dung dịch 2,3-indolinedion trong acid sulfuric (1 trong 100) vào 0,5 ml dịch lọc trên, màu đỏ xuất hiện.

D. Rửa tủa thu được ở phép thử C bằng methanol (TT) và sấy ở 100 °C trong 1 giờ. Cho 10 ml methanol (TT) vào 0,01 g tủa trên đã sấy khô, lắc mạnh, lọc. Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 1 giọt dung dịch sắt (III) clorid 9 % (TT), màu xanh lá xuất hiện.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - nước - acid acetic khan (3 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 10 ml N,N-dimethylformamid (TT).

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng N,N-dimethylformamid (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Làm khô bản mỏng trong không khí. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào, ngoài vết pyrantel và vết acid pamoic, trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được có màu đậm hơn màu của vết pyrantel (R_f khoảng 0,3) trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Clorid

Không được quá 0,036 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 0,46 g chế phẩm, thêm 10 ml dung dịch acid nitric 2 M (TT) và 30 ml nước, đun nóng trên cách thủy 5 phút. Sau khi làm nguội, thêm nước vừa đủ 50 ml và lọc. Lấy 15 ml dịch lọc để thử.

Sulfat

Không được quá 0,144 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 0,69 g chế phẩm, thêm 5 ml dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT) và nước vừa đủ 100 ml, đun nóng trên cách thủy, vừa đun vừa lắc khoảng 5 phút. Sau khi làm nguội, thêm nước vừa đủ 100 ml và lọc. Lấy 15 ml dịch lọc để thử.

Arsen

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Cân 0,5 g chế phẩm vào chén nung. Thêm 10 ml dung dịch magnesi nitrat hexahydrat trong ethanol 95 % (1 : 50). Đốt cháy và nung khoảng 400 °C thành tro. Nếu không than hóa hết thì làm ẩm hỗn hợp trong chén với một lượng nhỏ acid nitric (TT) rồi nung tiếp thành tro. Sau khi để nguội thêm 3 ml acid hydrochloric đậm đặc (TT), đun cách thủy để hòa tan và tiến hành theo phương pháp A.

Kim loại nặng

Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 4. Dùng 3 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C; 2 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,30 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,500 g chế phẩm, thêm 25 ml cloroform (TT) và 25 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M

(TT), lắc 15 phút và chiết lấy lớp cloroform. Chiết tiếp 2 lần nữa, mỗi lần với 25 ml *cloroform* (TT). Lọc các dịch chiết qua 5 g *natri sulfat khan* (TT). Tập trung các dịch chiết cloroform, thêm 30 ml *acid acetic khan* (TT). Định lượng bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ), dùng 2 giọt *dung dịch tím tinh thể* (TT) làm chỉ thị. Song song tiến hành làm mẫu trắng.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương 59,47 mg $C_{11}H_{14}N_2S.C_{23}H_{16}O_6$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc

Thuốc trị giun.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN PYRANTEL PAMOAT

Tabellae Pyranteli pamoati

Là viên nén bao phim chứa pyrantel pamoat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén", mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng pyrantel, $C_{11}H_{14}N_2S$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén bao phim màu đồng nhất, nhân màu vàng nhạt.

Định tính

A. Lấy một lượng chế phẩm tương đương 40 mg pyrantel pamoat, thêm 20 ml hỗn hợp *dioxan - dung dịch amoniac 0,1 %* (1 : 1), lắc để hòa tan pyrantel pamoat, lọc. Dịch lọc thu được làm các phép thử sau:

Lấy 5 ml dịch lọc thêm 2 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT), xuất hiện kết tủa vàng.

Bốc hơi 10 ml dịch lọc đến cạn, thêm vào cạn 1 ml *acid sulfuric* (TT), lắc, xuất hiện màu đỏ.

B. Trong phần định lượng, thời gian lưu của 2 pic chính trên sắc ký đồ từ dung dịch thử phải tương đương với thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: *Acetonitril - nước - acid acetic băng - diethylamin* (94 : 2,5 : 2,5 : 1). Điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên hòa tan trong pha động để thu được

dung dịch có nồng độ pyrantel pamoat khoảng 80 µg/ml, lọc.

Dung dịch chuẩn: Cân một lượng pyrantel pamoat chuẩn hòa tan trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ tương ứng dung dịch thử, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh A (5 µm đến 10 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 288 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn với thời gian chạy tối thiểu phải gấp 2,5 lần thời gian lưu của pic pyrantel. Hiệu năng của cột được xác định từ pic đáp ứng của pyrantel trong dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột không được ít hơn 8000. Thời gian lưu tương đối của pic pyrantel là 1 và của pic acid pamoic khoảng 0,6. Độ phân giải giữa pic pyrantel và pic acid pamoic không được nhỏ hơn 10. Hệ số đuôi của pic pyrantel không được quá 1,3. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trên sắc ký đồ từ các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 1,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng pyrantel, $C_{11}H_{14}N_2S$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic pyrantel thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{11}H_{14}N_2S$ của pyrantel pamoat chuẩn.

1 mg pyrantel pamoat tương ứng với 0,347 mg pyrantel base.

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

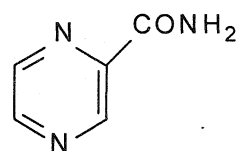
Thuốc trị giun.

Hàm lượng thường dùng

300 mg.

PYRAZINAMID

Pyrazinamidum



$C_5H_5N_3O$

P.t.l: 123,1

Pyrazinamid là pyrazin-2-carboxamid, phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $C_5H_5N_3O$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, không mùi hoặc gần như không mùi.

Hơi tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 % và methylen clorid, rất khó tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn một trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của pyrazinamid chuẩn. Nếu hai phổ không phù hợp với nhau thì tiến hành hòa tan riêng rẽ một lượng chế phẩm và chuẩn trong một thể tích tối thiểu *ethanol* 96 % (TT) bốc hơi đến khô và đo phổ hồng ngoại của các cặn thu được.

B. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Hút 1,0 ml dung dịch A và thêm nước vừa đủ 10 ml, đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch này trong vùng từ 290 nm đến 350 nm, dung dịch chế phẩm có cực đại hấp thụ ở bước sóng 310 nm. Hút 2,0 ml dung dịch A và thêm nước vừa đủ 100,0 ml, đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch này trong vùng từ 230 nm đến 290 nm, dung dịch chế phẩm có cực đại hấp thụ ở bước sóng 268 nm với độ hấp thụ riêng tương ứng với cực đại này từ 640 đến 680.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml nước. Thêm 1 ml dung dịch sắt (II) sulfat (TT₂), dung dịch chuyển thành màu vàng. Thêm 1 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT), dung dịch chuyển thành màu xanh đen.

D. Điểm chảy: Từ 188 °C đến 191 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng với cùng dung môi để được 50 ml.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 25 ml dung dịch S, thêm 0,05 ml dung dịch phenolphthalein (TT) và 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ). Dung dịch có màu đỏ. Thêm 1,0 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ). Dung dịch không màu. Thêm 0,15 ml dung dịch đỏ methyl (TT). Dung dịch có màu đỏ.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3. Dùng 1 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Butan-1-ol - acid acetic băng - nước (60 : 20 : 20).

Dung môi hòa tan: Methanol - dicloromethan (1 : 9).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong dung môi hòa tan để được 10 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 50 ml bằng dung môi hòa tan. Pha loãng tiếp 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng dung môi hòa tan.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg acid nicotinic chuẩn trong dung môi hòa tan, thêm 1 ml dung dịch thử và pha loãng thành 10 ml bằng dung môi hòa tan.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí rồi quan sát ngay dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được đậm màu hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách rõ ràng.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 2,00 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 50 ml anhydrid acetic (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 12,31 mg C₅H₅N₃O.

Bảo quản

Đựng trong chai lọ thật kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống lao.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN PYRAZINAMID**Tabellae Pyrazinamidi**

Là viên nén chứa pyrazinamid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng pyrazinamid, C₅H₅N₃O, phải từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,25 g pyrazinamid với 20 ml *ethanol* (TT), lọc, bốc hơi dịch lọc tới khô và sấy cần ở 105 °C trong 30 phút. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cần phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của pyrazinamid.

B. Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg pyrazinamid với 50 ml *nước* và lọc. Pha loãng 1 ml dịch lọc thành 100 ml với *nước*. Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm phải có 2 cực đại ở bước sóng 268 nm và 310 nm.

C. Đun sôi một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg pyrazinamid với 5 ml *dung dịch natri hydroxyd* 5 M (TT), sẽ có mùi amoniac bay ra.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc. Pha loãng dịch lọc với *nước* để có nồng độ khoảng 10 µg pyrazinamid trong 1 ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 268 nm, dùng *nước* làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch pyrazinamid chuẩn có nồng độ tương đương pha trong *nước*. Tính lượng pyrazinamid, $C_5H_5N_3O$, được hòa tan từ các độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_5H_5N_3O$ trong pyrazinamid chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng pyrazinamid so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,2 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF*₂₅₄.

Dung môi khai triển: *Acid acetic* băng - *nước* - *n-butanol* (20 : 20 : 60).

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g pyrazinamid với 50 ml hỗn hợp *cloroform* - *methanol* (9 : 1), lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô và hòa tan cần trong hỗn hợp dung môi trên thành 10 ml.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 500 thể tích bằng hỗn hợp *cloroform* - *methanol* (9 : 1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô

ngoài không khí và quan sát ngay dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g pyrazinamid cho vào bình định mức 500 ml, thêm 200 ml *nước*, để yên 10 phút, thỉnh thoảng lắc, sau đó lắc siêu âm trong 10 phút rồi thêm *nước* đến định mức. Lắc đều, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc với *nước* thành 100,0 ml, trộn đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 268 nm, dùng *nước* làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch pyrazinamid chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng dung môi. Tính hàm lượng pyrazinamid, $C_5H_5N_3O$, trong viên từ các độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_5H_5N_3O$ trong pyrazinamid chuẩn.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

Thuốc chống lao.

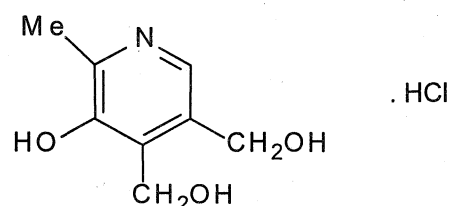
Hàm lượng thường dùng

500 mg.

PYRIDOXIN HYDROCLORID

Pyridoxini hydrochloridum

Vitamin B₆



$C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$

P.t.l: 205,6

Pyridoxin hydroclorid là (5-hydroxy-6-methylpyridin-3, 4-diyl)dimethanol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng.

Dễ tan trong *nước*, khó tan trong *ethanol* 96 %, thực tế không tan trong *cloroform* và *ether*.

Chảy ở khoảng 205 °C kèm theo phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phở hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phở hồng ngoại của pyridoxin hydroclorid chuẩn.

B. Hút 1,0 ml dung dịch S, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ 50,0 ml, thu được dung dịch A. Hút 1,0 ml dung dịch A, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ 100,0 ml. Phở hấp thụ từ ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch này trong vùng từ 250 nm đến 350 nm có 1 cực đại hấp thụ ở khoảng 288 nm đến 296 nm. Độ hấp thụ riêng tương ứng với bước sóng cực đại này từ 425 đến 445. Hút 1,0 ml dung dịch A, thêm *dung dịch đệm phosphat 0,025 M (TT)* vừa đủ 100,0 ml. Phở hấp thụ từ ngoại trong vùng từ 220 nm đến 350 nm của dung dịch thu được có hai cực đại hấp thụ, một cực đại ở khoảng 248 nm đến 256 nm và 1 cực đại ở 320 nm đến 327 nm. Độ hấp thụ riêng tương ứng với các cực đại này lần lượt là 175 đến 195 và 345 đến 365.

C. Trong phép thử Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

D. Dung dịch S cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyl (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S từ 2,4 đến 3,0 (Phụ lục 6.2).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Aceton - dicloromethan - tetrahydrofuran - amoniac 13,5 M (65 : 13 : 13 : 9).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước*, và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hút 1 ml dung dịch thử (1) thêm *nước* vừa đủ 10 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,10 g pyridoxin hydroclorid chuẩn trong *nước*, và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hút 5 ml dung dịch thử (1), thêm *nước* vừa đủ 200 ml. Hút 1 ml dung dịch và thêm *nước* vừa đủ 10 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình không bão hòa đến khi dung môi đi được 15 cm, để bản mỏng khô ngoài không khí rồi phun lên bản mỏng *dung dịch natri carbonat 5 %* trong hỗn hợp *nước - ethanol 96 %* (70 : 30). Làm khô bằng luồng không khí, rồi lại phun lên bản mỏng *dung dịch 2,6-dicloro-quinon-4-clorimid 0,1 % (kl/tt)* trong *ethanol 96 % (TT)* và quan sát ngay. Bất cứ một vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) trừ vết chính không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %), bỏ qua các vết nằm trên vạch xuất phát.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml *acid acetic khan (TT)* và 6 ml dung dịch *thủy ngân (II) acetat (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* (Phụ lục 10.6), dùng 0,05 ml *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị, cho đến khi dung dịch có màu xanh lục.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 20,56 mg C₈H₁₁NO₃. HCl.

Bảo quản

Trong chai lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin nhóm B.

Chế phẩm

Viên nén, nang, thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM PYRIDOXIN HYDROCLORID

Injectio Pyridoxini hydrochloridi

Thuốc tiêm vitamin B₆

Là dung dịch vô khuẩn của pyridoxin hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng pyridoxin hydroclorid, C₈H₁₁NO₃.HCl, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

Lấy một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 100 mg pyridoxin hydroclorid, pha loãng với nước thành 100 ml (dung dịch A).

A. Trong phần Định lượng, phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử phải có hấp thụ cực đại ở khoảng 290 nm.

B. Pha loãng 1 ml dung dịch A với nước thành 10 ml. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 2 ml *dung dịch natri acetat 20 % (TT)*, 1 ml nước và 1 ml *dung dịch 2,6-dicloroquinon clorimid 0,5 % trong ethanol*, lắc đều. Xuất hiện màu xanh lam, phai nhanh và chuyển sang đỏ. Lặp lại phép thử trên, thay 1 ml nước bằng 1 ml *dung dịch acid boric 4 %*, không có màu xanh xuất hiện.

C. Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu đỏ. Thêm từng giọt *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, màu đỏ phai dần.

pH

Từ 2,5 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 0,1 g pyridoxin hydroclorid, pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* thành 500,0 ml, lắc đều. Lấy 5,0 ml dung dịch, pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* thành 100,0 ml, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 290 nm, trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tính hàm lượng pyridoxin hydroclorid, $C_8H_{11}NO_3.HCl$, trong thuốc tiêm theo A (1 %, 1 cm). Lấy 430 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 290 nm.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin nhóm B.

Hàm lượng thường dùng

2,5 %; 5,0 % và 10,0 %.

VIÊN NÉN PYRIDOXIN HYDROCLORID***Tabellae Pyridoxini hydrochloridi*****Viên nén vitamin B₆**

Là viên nén chứa pyridoxin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng pyridoxin hydroclorid, $C_8H_{11}NO_3.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

Chế phẩm phải đáp ứng các phép thử như mô tả ở mục Định tính trong chuyên luận “Thuốc tiêm pyridoxin hydroclorid”.

Dung dịch A được chuẩn bị như sau: Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg pyridoxin hydroclorid, thêm 50 ml nước (TT), lắc kỹ, lọc.

Định lượng

Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 25 mg pyridoxin hydroclorid, thêm 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, đun cách thủy 15 phút, thỉnh thoảng lắc. Để nguội, pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* thành 100,0 ml, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Lấy 5,0 ml dịch lọc, pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* thành 100,0 ml, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng khoảng 290 nm, trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tính hàm lượng pyridoxin hydroclorid, $C_8H_{11}NO_3.HCl$, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 430 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 290 nm.

Bảo quản

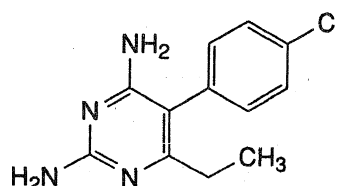
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin nhóm B.

Hàm lượng thường dùng

25 mg; 50 mg.

PYRIMETHAMIN***Pyrimethaminum***

$C_{12}H_{13}ClN_4$

P.t.l: 248,7

Pyrimethamin là 5-(4-chlorophenyl)-6-ethylpyrimidin-2,4-diamin, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{13}ClN_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu gần như trắng hoặc tinh thể không màu. Thực tế không tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của pyrimethamin chuẩn.

B. Nhiệt độ nóng chảy: 239 °C đến 243 °C (Phụ lục 6.7).

C. Hòa tan 0,14 g chế phẩm trong *ethanol* (TT), pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Hút 10,0 ml pha loãng thành 100,0 ml với *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT). Hút 10,0 ml dung dịch thu được, pha loãng thành 100,0 ml với *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M* (TT). Phổ hấp thụ ánh sáng của dung dịch trong khoảng từ 250 nm đến 300 nm (Phụ lục 4.1) có một cực đại tại 272 nm và một cực tiểu tại 261 nm. Độ hấp thụ riêng tại cực đại có giá trị từ 310 đến 330.

D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng ở phần thử tạp chất liên quan. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 3) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Dung dịch S: Lắc 1,0 g chế phẩm với 50 ml *nước* trong 2 phút, lọc.

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,05 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT). Dung dịch không màu. Không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M* (CĐ) cần thêm vào để làm chuyển màu chỉ thị sang màu hồng. Thêm 0,4 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,01 M* (CĐ) và 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl* (TT) làm chỉ thị. Dung dịch phải có màu đỏ hoặc màu da cam.

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,25 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - propanol - acid acetic băng - toluen (4 : 8 : 12 : 76).

Các dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - cloroform* (1 : 9) và pha loãng thành 25 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng hỗn hợp *methanol - cloroform* (1 : 9).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,1 g pyrimethamin chuẩn trong hỗn hợp *methanol - cloroform* (1 : 9) và pha loãng thành 100 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 200 ml bằng hỗn hợp *methanol - cloroform* (1 : 9). Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào không được có màu đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Sulfat

Không được quá 80 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).

Dùng 15 ml dung dịch S. Mẫu đối chiếu gồm 2,5 ml *dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu* (TT) và 12,5 ml *nước*.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(0,50 g; 100 °C đến 105 °C; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 25 ml *acid acetic khan* (TT) bằng cách đun nóng nhẹ. Để nguội, chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ), xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 24,87 mg C₁₂H₁₃ClN₄.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

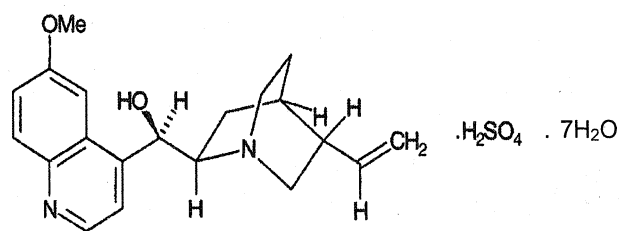
Thuốc chống sốt rét.

Chế phẩm

Viên nén.

QUININ BISULFAT

Quinini bisulfas



C₂₀H₂₄N₂O₂ · H₂SO₄ · 7H₂O

P.t.l: 548,6

Quinin bisulfat là (8*S*, 9*R*)-6'-methoxycinchonan-9-ol hydrosulfat heptahydrat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot H_2SO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng, không mùi, vị đắng, lên hoa ngoài không khí khô. Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Diethylamin - ether - toluen* (15 : 36 : 60).

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm 1,0 % trong *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch quinin sulfat chuẩn 1,0 % trong *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa 1,0 % của mỗi chất quinidin sulfat chuẩn và quinin sulfat chuẩn trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, làm khô bằng luồng không khí trong 15 phút và chạy sắc ký nhắc lại. Sấy khô bản mỏng ở 105 °C trong 30 phút, để nguội và phun thuốc thử *iodoplatinat* (TT). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.

B. Chế phẩm đáp ứng phép thử pH.

C. Chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của sulfat (Phụ lục 8.1).

pH

pH của dung dịch chế phẩm 1 % từ 2,8 đến 3,4 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ -208° đến -216°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chế phẩm 3 % trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (TT) để đo.

Các alcaloid cinchona khác

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat* (TT) và 3,0 g *hexylamin* (TT) trong 700 ml nước, điều chỉnh pH đến 2,8 bằng *dung dịch acid phosphoric 1 M* (TT), thêm 60 ml *acetonitril* (TT) và pha loãng thành 1000 ml bằng nước.

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 5 ml pha động, đun nóng nhẹ nếu cần thiết, pha loãng thành 10 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2): Được chuẩn bị tương tự như dung dịch thử, nhưng

thay chế phẩm bằng quinin sulfat chuẩn và quinidin sulfat chuẩn.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml với pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10 mg *thioure* trong pha động thành 10 ml.

Dung dịch phân giải: Hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m) (*Hypersil ODS 5 μ m* là thích hợp).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 250 nm cho sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) và ở 316 nm cho sắc ký đồ của các dung dịch khác.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (2) và (4), nếu cần thiết điều chỉnh nồng độ của acetonitril trong pha động để sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) có hệ số dung lượng của pic quinidin là 3,5 đến 4,5, *Vo* được tính từ pic của thioure trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4).

Tiêm dung dịch đối chiếu (1), (2), (3) và dung dịch phân giải. Sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) cho 1 pic chính của quinin và 1 pic của dihydroquinin có thời gian lưu tương đối so với quinin là khoảng 1,4. Sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 1 pic chính của quinidin và 1 pic của dihydroquinidin có thời gian lưu tương đối so với quinidin là khoảng 1,2. Sắc ký đồ của dung dịch phân giải cho 4 pic: quinin, dihydroquinin, quinidin, dihydroquinidin được định tính bằng so sánh thời gian lưu của chúng với các pic tương ứng trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2).

Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch phân giải có độ phân giải giữa pic của quinin và quinidin ít nhất là 1,5 và độ phân giải giữa pic của dihydroquinidin và quinin ít nhất là 1,0 và tỷ số tín hiệu của pic chính và nhiễu nền trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) ít nhất là 5.

Tiêm dung dịch thử. Tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của pic chính. Tính hàm lượng phần trăm của tạp chất liên quan bằng phương pháp chuẩn hóa, bỏ qua bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn diện tích của pic trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %). Hàm lượng của dihydroquinin không được quá 10 %, hàm lượng của bất kỳ tạp chất liên quan nào rửa giải trước quinin không được quá 5 % và hàm lượng của bất kỳ tạp chất liên quan nào khác không được quá 2,5 %.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Nước

Từ 19,0 % đến 25,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,20 g chế phẩm.

Cation chuẩn độ được

Phải từ 75,3 % đến 79,6 %, tính theo chế phẩm khan, được xác định bằng phương pháp sau: Thêm vào dung dịch nước đã thu được ở mục định lượng 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* và định lượng bằng *dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (CĐ)*.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 16,32 mg $[C_{20}H_{26}N_2O_2]^{2+}$

Định lượng

Hòa tan 0,450 g chế phẩm trong 15 ml *nước*. Thêm 25 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* và chiết bằng *cloroform (TT)* 3 lần, mỗi lần 25 ml. Tập trung dịch chiết *cloroform (TT)* và rửa bằng 20 ml *nước*. Gộp các dung dịch nước thu được để đem thử cation chuẩn độ được. Làm khan dịch chiết *cloroform* bằng *natri sulfat khan (TT)*, bốc hơi tới khô ở áp suất 2 kPa, hòa tan cân còn lại trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Tiến hành chuẩn độ theo phương pháp định lượng trong môi trường khan (Phụ lục 10.6, phương pháp 1), dùng *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 21,13 mg $C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot H_2SO_4$.

Bảo quản

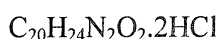
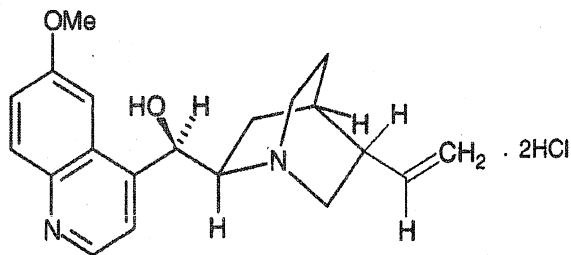
Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Trị sốt rét.

Chế phẩm

Viên nén.

QUININ DIHYDROCLORID***Quinini dihydrochloridum***

P.t.l: 397,3

Quinin dihydroclorid là (8*S*,9*R*)-6'-methoxycinchonan-9-ol dihydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$, tính theo chế phẩm đã sấy khô.

Tính chất

Bột trắng hay gần như trắng. Rất tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Diethylamin- ether - toluen (15 : 36 : 60).

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm 1,0 % trong methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch quinin sulfat chuẩn 1,0 % trong methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa 1,0 % của mỗi quinidin sulfat chuẩn và quinin sulfat chuẩn trong methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 4 μ l của mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí 15 phút và chạy sắc ký nhắc lại. Sau đó sấy khô bản mỏng ở 105 °C trong 30 phút, để nguội và phun *thuốc thử iodoplatinat (TT)*. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.

B. Đáp ứng phép thử pH.

C. Chế phẩm cho phản ứng A của phép thử định tính ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

pH của dung dịch chế phẩm 3,0 % từ 2,0 đến 3,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ -223° đến -229°, tính theo chế phẩm đã sấy khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chế phẩm 3,0 % trong *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)* để đo.

Bari

Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* vào 15 ml dung dịch chế phẩm 2,0 %. Dung dịch thu được vẫn phải trong ít nhất trong vòng 15 phút.

Sulfat

Không được quá 0,12 % (Phụ lục 9.4.14).

Dùng 0,125 g để thử.

Các alcaloid cinchona khác

Yêu cầu và tiến hành thử theo phép thử Các alcaloid cinchona khác trong chuyên luận Quinin bisulfat.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Cation chuẩn độ được

Phải từ 79,7 % đến 84,2 %, tính theo chế phẩm đã sấy khô.

Hòa tan 0,4 g chế phẩm trong 10 ml nước, thêm 40 ml methanol (TT) và chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD) dùng dung dịch phenolphthalein (TT) làm chỉ thị.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD) tương đương với 16,32 mg $[C_{20}H_{26}N_2O_2]^{2+}$.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 50 ml acid acetic khan (TT) và 20 ml anhydrid acetic (TT), thêm 10 ml dung dịch thủy ngân (II) acetat (TT). Định lượng bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD), dùng dung dịch tím tinh thể (TT) làm chỉ thị.

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD) tương đương 19,87 mg $C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống sốt rét.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM QUININ DIHYDROCLORID***Injectio Quinini dihydrochloridi***

Là dung dịch vô khuẩn của quinin dihydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng của quinin dihydroclorid,

$C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$ từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, gần như không màu tới màu vàng nhạt nhưng không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị bằng cách pha loãng 10 ml dung dịch kali dicromat 0,80 mg/ml bằng nước vừa đủ 20 ml.

Định tính

A. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Diethylamin - acetone - toluen (10 : 20 : 80).

Dung dịch thử: Lấy 1 thể tích chế phẩm có chứa khoảng 0,5 g quinin dihydroclorid, chiết với 50 ml hỗn hợp cloroform - ethanol 96 % (2 : 1). Lấy lớp dung môi hữu cơ và lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch quinin sulfat chuẩn 1,0 % trong hỗn hợp cloroform - ethanol 96 % (2 : 1).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch có chứa 1,0 % mỗi chất chuẩn quinidin sulfat và quinin sulfat trong hỗn hợp cloroform - ethanol 96 % (2 : 1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 μ l mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun dung dịch acid sulfuric 0,05 M trong ethanol, sau đó phun thuốc thử Dragendorff (TT).

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết chính tách biệt rõ ràng.

B. Lấy 0,5 ml chế phẩm, thêm 0,5 ml dung dịch acid nitric 16 % (TT) và 0,5 ml dung dịch bạc nitrat 5 % (TT) sẽ có tủa trắng lớn nhỏ. Tủa này tan trong dung dịch amoniac 6 M (TT).

pH

Không được dưới 2,5 (Phụ lục 6.2).

Các alkaloid cinchona khác

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký, dung dịch đối chiếu (3), dung dịch đối chiếu (4), cách tiến hành như mô tả trong phép thử Các alkaloid cinchona khác của chuyên luận “Quinin bisulfat”.

Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm với pha động để thu được dung dịch có nồng độ 0,2 % quinin dihydroclorid.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg chất chuẩn quinin sulfat (đun nóng nhẹ nếu cần) trong 5 ml pha động và pha loãng thành 10 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg chất chuẩn quinidin sulfat (đun nóng nhẹ nếu cần) trong 5 ml pha động và pha loãng thành 10 ml với pha động.

Định lượng

Tiến hành phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6).

Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với 0,6 g quinin dihydroclorid, thêm 20 ml nước và 5 ml dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT), chiết 3 lần, mỗi lần với 25 ml cloroform (TT). Gộp các dịch chiết cloroform và rửa với 20 ml nước. Làm khan dịch chiết cloroform với natri sulfat khan (TT) và làm bay hơi ở áp suất 2 kPa tới khô. Hòa tan cặn với 50 ml acid acetic khan (TT). Thêm 20 ml anhydrid acetic (TT) và chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD), dùng dung dịch tím tinh thể (TT) làm chỉ thị.

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD) tương đương với 19,87 mg $C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

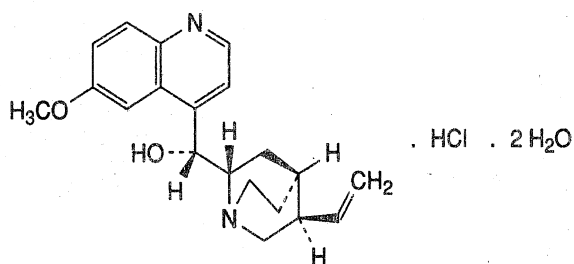
Loại thuốc

Thuốc chống sốt rét.

Nồng độ thường dùng

25 %, 50 %.

Chú ý: Cần pha loãng trước khi tiêm và có thể tiêm tĩnh mạch chậm theo chỉ dẫn của bác sĩ.

QUININ HYDROCLORID***Quinini hydrochloridum***

$C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl \cdot 2H_2O$

P.t.l: 396,9

Quinin hydroclorid là (8*S*, 9*R*)-6'-methoxycinchonan-9-ol hydroclorid dihydrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể hình kim không màu hay bột kết tinh trắng, không mùi, vị rất đắng.

Tan trong nước lạnh, dễ tan trong nước nóng, ethanol 96 % và cloroform, rất khó tan trong ether. Dung dịch trong cloroform có thể không trong suốt do tạo thành các giọt nước.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Diethylamin - ether - toluen* (10 : 24 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,10 g quinin sulfat chuẩn trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng không khí trong 15 phút và chạy sắc ký nhắc lại. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 30 phút, để nguội và phun thuốc thử *iodoplatinat* (TT). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Lấy 5 ml dung dịch

này, thêm 0,2 ml nước brom (TT) và 1 ml dung dịch amoniac 2 M (TT), màu xanh lục xuất hiện.

C. Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 3 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT) và thêm nước thành 100 ml. Xuất hiện huỳnh quang xanh lam khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 366 nm. Huỳnh quang này sẽ biến mất gần như hoàn toàn khi thêm 1 ml acid hydrocloric (TT).

D. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

E. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử pH.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 50 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu của mẫu V₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 20 ml bằng nước không có carbon dioxyd (TT).

Dung dịch thu được phải có pH từ 6,0 đến 6,8 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ -245° đến -258°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi để thử.

Bari

Lấy 15 ml dung dịch S, thêm vào 1 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT), để yên ít nhất 15 phút, dung dịch thu được không được đục hơn hỗn hợp gồm 15 ml dung dịch S và 1 ml nước.

Sulfat

Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 15 ml dung dịch S tiến hành thử.

Các alcaloid cinchona khác

Yêu cầu và tiến hành thử theo phép thử "Các alcaloid cinchona khác" trong chuyên luận "Quinin bisulfat" chỉ khác là: Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch phân giải có độ phân giải giữa pic của quinin và quinidin ít nhất là 3,0 và độ phân giải giữa pic của dihydroquinidin và quinin ít nhất là 2,0; và tỉ số tín hiệu của pic chính và nhiễu đường nền thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) ít nhất là 4.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 6,0 % đến 10,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol* 96 % (TT) và thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric* 0,01 M (TT). Tiến hành định lượng theo phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2) bằng *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (CĐ). Đọc thế tích *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (CĐ) thêm vào giữa hai điểm uốn.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (CĐ) tương đương với 36,09 mg $C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$.

Bảo quản

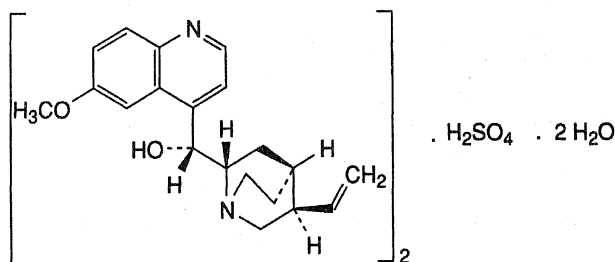
Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống sốt rét.

Chế phẩm

Viên nén.

QUININ SULFAT**Quinini sulfas**

$(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$

P.t.l: 783,0

Quinin sulfat là (8*S*, 9*R*)-6'-methoxycinchonan-9-ol sulfat (2 : 1) (muối) dihydrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, hoặc tinh thể hình kim không màu, mịn. Khó tan trong nước, hơi tan trong nước sôi và *ethanol* 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: Diethylamin - ether - toluen (10 : 24 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,10 g quinin sulfat chuẩn trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng làm khô trong luồng

không khí 15 phút và chạy sắc ký nhắc lại. Sau đó làm khô bản mỏng ở 105 °C trong 30 phút, để nguội và phun thuốc thử iodoplatinat (TT). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*. Thêm 0,2 ml *nước brom* (TT) và 1 ml *dung dịch amoniac* 2 M (TT), màu xanh lục xuất hiện.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 3 ml *dung dịch acid sulfuric* 1 M (TT) và pha loãng thành 100 ml với *nước*. Huỳnh quang màu xanh lam xuất hiện khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 366 nm, và biến mất khi thêm 1 ml *acid hydrocloric* (TT).

D. Hòa tan khoảng 45 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric* loãng (TT). Dung dịch thu được cho phản ứng A của sulfat (Phụ lục 8.1).

E. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử pH.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric* 0,1 M (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VL₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của hỗn dịch chế phẩm 10 g/l trong *nước* từ 5,7 đến 6,6 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ -237° đến -245°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Xác định trên dung dịch S.

Các alcaloid cinchona khác

Yêu cầu và tiến hành thử theo phép thử Các alcaloid cinchona khác trong chuyên luận Quinin hydroclorid.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 3,0 % đến 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *cloroform* (TT) và 20 ml *anhydrid acetic* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CĐ) tương đương với 24,90 mg $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4$.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống sốt rét.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN QUININ SULFAT***Tabellae Quinini sulfatis***

Là viên nén chứa quinin sulfat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng quinin sulfat, $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Diethylamin - aceton - toluen (10 : 20 : 80)

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên đã nghiền mịn có chứa khoảng 0,1 g quinin sulfat, lắc kỹ với 10 ml hỗn hợp *cloroform - ethanol* 96 % (2 : 1).

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch quinin sulfat chuẩn 1,0 % trong hỗn hợp *cloroform - ethanol* 96 % (2 : 1).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch có chứa 1,0 % mỗi chất chuẩn quinidin sulfat và quinin sulfat trong hỗn hợp *cloroform - ethanol* 96 % (2 : 1).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt 2 μ l mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch acid sulfuric* 0,05 M trong *ethanol*, sau đó phun *thuốc thử Dragendorff* (TT).

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết chính tách biệt rõ ràng.

B. Lắc kỹ một lượng bột viên có chứa 0,25 g quinin sulfat với 25 ml hỗn hợp *cloroform - ethanol* 96 % (2 : 1) và lọc. Làm bay hơi dịch lọc tới khô và rửa cặn còn lại với 10 ml *ether* (TT). Sấy khô cặn ở nhiệt độ 60 °C và áp suất không quá 15 kPa trong 2 giờ. pH của hỗn dịch 1,0 % cặn trong *nước* đo được phải từ 5,7 đến 6,6.

C. Lắc kỹ một lượng bột viên có chứa 0,1 g quinin sulfat với 20 ml *nước* và lọc. Dịch lọc cho phản ứng đặc trưng của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giò quay

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrochloric* 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrochloric* 0,1 M (nếu cần) để có nồng độ quinin sulfat khoảng 35 μ g/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 348 nm, trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan.

Tính hàm lượng quinin sulfat, $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 136 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 348 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % lượng quinin sulfat so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Các alcaloid cinchona khác

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký, dung dịch đối chiếu (3), dung dịch đối chiếu (4), cách tiến hành như mô tả trong phép thử Các alcaloid cinchona khác của chuyên luận “Quinin bisulfat”.

Dung dịch thử: Cân chính xác 1 lượng bột viên tương ứng với 50 mg quinin sulfat, thêm 20 ml pha động. Đun nóng nhẹ để hòa tan hoàn toàn hoạt chất. Làm nguội, pha loãng với pha động thành 25,0 ml và lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg chất chuẩn quinin sulfat (đun nóng nhẹ nếu cần) trong 5 ml pha động và pha loãng thành 10 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg chất chuẩn quinidin sulfat (đun nóng nhẹ nếu cần) trong 5 ml pha động và pha loãng thành 10 ml với pha động.

Định lượng

Tiến hành phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6).

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền nhỏ thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,4 g quinin sulfat, thêm 40 ml *anhydrid acetic* (TT), đun nóng để hòa tan hoàn toàn hoạt chất. Làm nguội rồi chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric* 0,1 N (CĐ), dùng *dung dịch tím tinh thể* (TT) làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch acid percloric* 0,1 N (CĐ) tương đương với 26,10 mg $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

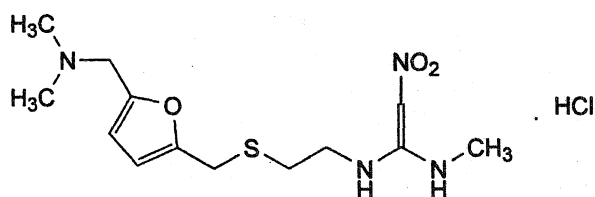
Thuốc chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg.

RANITIDIN HYDROCLORID

Ranitidini hydrochloridum



$C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$

P.t.l: 350,9

Ranitidin hydroclorid là N-[2-[[[5-[(dimethylamino)methyl]furan-2-yl]methyl]sulphanyl]ethyl]-N'-methyl-2-nitroethen-1,1-diamin hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc vàng nhạt. Tan hoàn toàn trong nước, hơi tan trong ethanol khan, rất khó tan trong methylen clorid.

Chế phẩm có tính đa hình.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ranitidin hydroclorid chuẩn. Mẫu chuẩn và mẫu thử được chuẩn bị bằng cách phân tán trong *parafin lỏng* (TT). Nếu hai phổ không phù hợp với nhau thì hòa tan riêng rẽ 10 mg chế phẩm và 10 mg ranitidin hydroclorid chuẩn trong 0,5 ml *methanol* (TT), bốc hơi đến khô dưới luồng khí nitơ. Sấy cán trong chân không trong 30 phút và dùng cán để ghi phổ mới.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng A của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyl* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN₅ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Dung dịch S phải có pH từ 4,5 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Nước - amoniac đậm đặc - 2-propanol - ethyl acetat (2 : 4 : 15 : 25).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 3,0 ml dung dịch thử (2) thành 100 ml bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử (2) thành 100 ml bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 100 ml bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử (2) thành 100 ml bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 10 mg N,N'-bis[2-[[[5-[(dimethylamino)methyl]furan-2-yl]methyl]-sulphanyl]ethyl]-2-nitroethen-1,1-diamin chuẩn (tạp chất A) trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (6): Hòa tan 10 mg [[5-[(2-aminoethyl)thio]methyl]furan-2-yl]methyl]dimethylamin chuẩn (tạp chất B) trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (7): Hòa tan 10 mg tạp chất chuẩn B của ranitidin trong dung dịch thử (1) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và đặt trong hơi iod bão hòa đến khi các vết hiện lên rõ ràng. Kiểm tra trong ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1): Vết tương ứng với tạp chất ranitidin A không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (0,5 %); bất kỳ vết nào ngoài vết chính và vết tương ứng với tạp chất ranitidin A không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %); tối đa có 3 vết như vậy có màu đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %) và trong số các vết này tối đa có 1 vết có màu đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch thử (7) có 2 vết tách rõ ràng, tương ứng với tạp chất ranitidin B [giá trị R_f của nó xác định từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6)] và ranitidin; và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) có 1 vết rõ ràng.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm để thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,75 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 60 °C; phosphor pentoxyl, áp suất không quá 0,1 kPa).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,280 g chế phẩm trong 35 ml nước. Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) tương đương với 35,09 mg $C_{13}H_{23}ClN_4O_3S$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng thụ thể H_2 -histamin.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, dung dịch uống, viên nén.

VIÊN NÉN RANITIDIN**Tabellae Ranitidini**

Là viên nén bao phim chứa ranitidin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ranitidin, $C_{13}H_{22}N_4O_3S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén bao phim.

Định tính

A. Trong phần thử Tập chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

B. Trong phần định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic ranitidin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

C. Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g ranitidin với 2 ml nước và lọc. Dịch lọc phải cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Tập chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi triển khai: Nước - amoniac 18 M - 2-propanol - ethyl acetat (2 : 4 : 15 : 25).

Dung dịch thử (1): Lắc một lượng bột viên tương ứng với 0,45 g ranitidin với 20 ml methanol (TT), lọc (giấy lọc Whatman số 1 là thích hợp).

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg ranitidin hydroclorid chuẩn trong 20 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 200 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 20 ml bằng methanol (TT), lấy 3 ml dung dịch này pha loãng thành 50 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 20 ml bằng methanol (TT), lấy 1 ml dung dịch này pha loãng thành 50 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (5): Chứa 0,10 % tạp chất ranitidin B chuẩn trong methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (6): Chứa 0,10 % tạp chất ranitidin B chuẩn trong dung dịch thử (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được ít nhất khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, đặt bản mỏng vào bình chứa hơi iod đến khi xuất hiện các vết trên bản mỏng.

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %), không có quá 1 vết đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %) và không có quá 3 vết đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,1 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) có 2 vết tương ứng với ranitidin và tạp chất ranitidin B tách ra rõ ràng.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: Dung dịch amoni acetat 0,1 M - methanol (15 : 85).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch ranitidin hydroclorid chuẩn 0,0112 % trong pha động.

Dung dịch thử: Cho 10 viên chế phẩm vào bình định mức 500 ml, thêm 400 ml pha động lắc cho các viên rã hoàn toàn (khoảng 15 phút) thêm pha động đến định mức, lắc đều, lọc (giấy lọc Whatman GF/C là thích hợp). Pha loãng dịch lọc bằng pha động để được dung dịch có nồng độ 0,01 % ranitidin.

Dung dịch phân giải: Chứa 0,0112 % ranitidin hydroclorid chuẩn và 0,0002 % dimethyl{5-[2-(1-methyl-amino-2-nitrovinylamino) ethylsulphinylmethyl] fur-furyl} amin chuẩn trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 322 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn 2 %. Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, trên sắc ký đồ thu được của dung dịch

phân giải pic ranitidin phải tách rõ so với pic của dimethyl{5-[2-(1-methylamino-2-nitrovinylamino) ethyl sulphinylmethyl]furfuryl}amin chuẩn.

Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng ranitidin, $C_{13}H_{22}N_4O_3S$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{13}H_{22}N_4O_3S$ của ranitidin hydroclorid chuẩn.

Hệ số chuyển đổi từ ranitidin hydroclorid ($C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$) sang ranitidin ($C_{13}H_{22}N_4O_3S$) là 0,8961.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Đối kháng thụ thể Histamin H_2 .

Hàm lượng thường dùng

150 mg, 300 mg.

RETINOL (VITAMIN A) TỔNG HỢP ĐẬM ĐẶC DẠNG BỘT

Retinoli pulvis

Retinol tổng hợp đậm đặc dạng bột được điều chế bằng cách phân tán một ester tổng hợp của retinol trong chất nền gelatin hoặc gôm arabic hoặc chất thích hợp khác.

Hàm lượng vitamin A quy định không được ít hơn 250000 đơn vị quốc tế trong 1 g chế phẩm và phải từ 95,0 % đến 115,0 % so với hàm lượng ghi trên nhãn. Chế phẩm có thể chứa chất ổn định thích hợp như chất chống oxy hóa.

Tính chất

Bột màu hơi vàng, thường dưới dạng hạt có kích thước gần như đồng nhất, phụ thuộc vào công thức điều chế. Chế phẩm thực tế không tan trong nước hoặc trương nở hoặc tạo thành nhũ tương.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ether - cyclohexan (20 : 80).

Dung dịch thử: Cho vào ống nghiệm nút mài có dung tích 20 ml một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 17.000 đơn vị quốc tế vitamin A. Thêm khoảng 20 mg bromelains (TT), 2 ml nước và khoảng 150 µl 2-propanol (TT), lắc tròn nhẹ nhàng trong 2 đến 5 phút trong cách thủy ở 60 °C đến 65 °C. Làm nguội đến dưới 30 °C và thêm 5 ml 2-propanol (TT) có chứa 1 g/l butylhydroxy-toluen (TT). Lắc mạnh trong 1 phút, để yên trong vài phút và sử dụng dung dịch phía trên.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 10 mg/ml các chất chuẩn ester của retinol (tương đương khoảng 3,3 đơn

vị quốc tế vitamin A trong 1 µl) trong 2-propanol (TT) có chứa 1 g/l butyl hydroxytoluen (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai ngay trong bình sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng trong không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Phép thử định tính chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu có các vết riêng rẽ tương ứng với các ester. Thứ tự rửa giải từ dưới lên trên là: retinol acetat, retinol propionat và retinol palmitat. Thành phần của dung dịch thử được xác định bằng cách so sánh vết hoặc các vết chính của dung dịch thử với các vết của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp 4 (Phụ lục 10.10).

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, đồ đầy, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ 8 °C đến 15 °C.

Khi đồ đựng đã mở nên sử dụng chế phẩm càng nhanh càng tốt. Nếu chế phẩm chưa sử dụng hết ngay nên bảo quản bằng khí trơ.

Nhãn

Nhãn phải ghi:

Số đơn vị quốc tế trong 1 g.

Tên của ester hay các ester.

Tên của tá dược chính hay các tá dược đã dùng và tên của bất kỳ các chất ổn định đã được thêm vào.

Loại thuốc

Vitamin A.

Chế phẩm

Nang mềm.

RETINOL (VITAMIN A) TỔNG HỢP ĐẬM ĐẶC DẠNG DẦU

Retinoli densatum oleosum

Retinol tổng hợp đậm đặc dạng dầu được điều chế từ ester tổng hợp của retinol và được pha loãng hoặc không pha loãng bằng dầu thực vật thích hợp. Chế phẩm có thể chứa chất ổn định thích hợp như chất chống oxy hóa.

Hàm lượng vitamin A quy định không được ít hơn 500000 đơn vị quốc tế trong 1 g chế phẩm và phải từ 95,0 % đến 110,0 % so với hàm lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Chất lỏng dạng dầu, màu vàng hay vàng nâu. Thực tế không tan trong nước, tan hay tan từng phần trong ethanol, trộn lẫn được với dung môi hữu cơ. Dung dịch có hàm lượng cao có thể kết tinh từng phần.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ether - cyclohexan (20 : 80).

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm có nồng độ khoảng 3,3 đơn vị quốc tế vitamin A/ μ l trong cyclohexan (TT) có chứa 1 g/l butylhydroxytoluen (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 10 mg/ml các chất chuẩn ester của retinol (tương đương khoảng 3,3 đơn vị quốc tế vitamin A trong 1 μ l) trong cyclohexan (TT) có chứa 1 g/l butylhydroxytoluen (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai ngay trong bình sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng trong không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Phép thử định tính chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu có các vết riêng rẽ tương ứng với các ester. Thứ tự rửa giải từ dưới lên trên là: retinol acetat, retinol propionat và retinol palmitat. Thành phần của dung dịch thử được xác định bằng cách so sánh vết hoặc các vết chính của dung dịch thử với các vết của dung dịch đối chiếu.

Chỉ số acid

Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.2).

Dùng 2,0 g chế phẩm để thử.

Chỉ số peroxyd

Không được quá 10,0 (Phụ lục 7.6).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp 1 hoặc 4 (Phụ lục 10.10).

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, đầy, tránh ánh sáng, và để ở nhiệt độ 8 °C đến 15 °C.

Khi đồ đựng đã mở nên sử dụng chế phẩm càng nhanh càng tốt. Nếu chế phẩm chưa sử dụng hết ngay nên bảo quản bằng khí trơ.

Nhãn

Nhãn phải ghi:

Số đơn vị quốc tế trong 1 g.

Tên của ester hay các ester.

Tên của bất kỳ các chất ổn định đã được thêm vào.

Phương pháp tạo lại dung dịch trong trường hợp chế phẩm bị kết tinh.

Loại thuốc

Vitamin A.

Chế phẩm

Nang mềm.

NANG MỀM VITAMIN A

Molles capsulae Vitamini A

Là nang mềm chứa dung dịch vitamin A trong dầu tinh chế thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nang” (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng vitamin A, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang mềm chứa dầu trong suốt, màu đồng nhất.

Định tính

A. Trong phần Định lượng:

Nếu tiến hành bằng phương pháp đo quang thì phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử phải có cực đại đáp ứng yêu cầu của phép định lượng.

Nếu tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao thì sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải cho một pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

B. Pha loãng một lượng dầu trong nang với *cloroform* (TT) để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 10 IU/ml đến 20 IU/ml. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 2 ml *dung dịch antimony trichlorid* (TT), xuất hiện màu xanh không bền.

Định lượng

Tiến hành như mô tả trong Phụ lục 10.10. Định lượng vitamin A.

Tính hàm lượng vitamin A trong nang.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

2000 IU; 5000 IU.

NANG MỀM VITAMIN A VÀ D

Molles capsulae Vitamini A et D

Là nang mềm chứa vitamin A và vitamin D₃.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nang” (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng vitamin A và vitamin D₃, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang mềm, bên trong chứa dầu trong suốt, màu đồng nhất.

Định tính

A. Trong phần Định lượng vitamin A (Phụ lục 10.10): Nếu tiến hành bằng phương pháp đo quang thì phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử phải có cực đại đáp ứng yêu cầu của phép định lượng.

Nếu tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, thì sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có 1 pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic vitamin A trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

B. Pha loãng một lượng dầu chứa trong nang với *cloroform* (TT) để thu được dung dịch có nồng độ vitamin A khoảng 10 IU/ml đến 20 IU/ml. Lấy 1 ml dung dịch, thêm 2 ml *dung dịch stibi tricolorid* (TT), xuất hiện màu xanh không bền.

C. Trong phần Định lượng vitamin D₃, sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải cho một pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Định lượng vitamin A (Phụ lục 10.10)

Tiến hành như mô tả trong Phụ lục 10.10. Định lượng vitamin A.

Định lượng vitamin D₃

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: *Methanol* - *ethyl acetat* - *nước* (90 : 7 : 3).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch vitamin D₃ (colecalfiferol) chuẩn trong *ethanol* (TT), có nồng độ chính xác khoảng 20 IU/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của thuốc trong nang, trộn đều. Cân chính xác một lượng dầu chứa trong nang tương ứng với 500 IU vitamin D₃ vào bình định mức 25 ml. Thêm khoảng 20 ml *ethanol* (TT), lắc kỹ để hòa tan (nếu cần, trước khi thêm *ethanol* có thể cho thêm 1 ml *ethyl acetat* (TT) để hòa tan hết dầu). Thêm *ethanol* (TT) đến định mức, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm đến 10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 100 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng vitamin D₃ trong nang dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic vitamin D₃ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ vitamin D₃ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

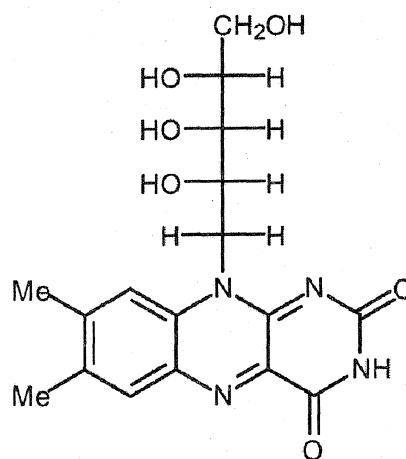
Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

Vitamin A 5000 IU và vitamin D 400 IU.

RIBOFLAVIN

Riboflavinum



C₁₇H₂₀N₄O₆

P.t.l: 376,4

Riboflavin là 7, 8-dimethyl-10-[(2*S*,3*S*,4*R*)-2, 3, 4, 5-tetrahydroxypentyl]-3*H*, 10*H*-benzopteridin-2, 4- dion, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % C₁₇H₂₀N₄O₆, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột tinh thể màu vàng đến vàng cam.

Rất khó tan trong nước, thực tế không tan trong *cloroform*, *ethanol* 96 % và ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của riboflavin chuẩn.

B. Góc quay cực riêng của chế phẩm phải đạt quy định (mục góc quay cực riêng).

C. Hòa tan 1 mg chế phẩm trong 100 ml *nước*. Dung dịch có màu vàng xanh nhạt khi có ánh sáng truyền qua và có huỳnh quang xanh vàng đậm khi có ánh sáng phản chiếu. Huỳnh quang mất đi khi thêm acid vô cơ hay kiềm.

Giới hạn acid - kiềm

Cân 0,5 g chế phẩm, thêm 25 ml *nước không có carbon dioxyl* (TT), đun sôi 2 phút, để nguội và lọc. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 0,05 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT) và 0,4 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,01 N (CD), dung dịch có màu da cam. Thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric* 0,01 N (CD), dung dịch có màu vàng. Thêm 0,15 ml *dung dịch đỏ methyl* (TT), dung dịch có màu da cam.

Độ hấp thụ ánh sáng

Pha loãng 25 ml dung dịch cuối cùng ở phần định lượng với 25 ml *nước không có carbon dioxyl* (TT). Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch này có

cực đại hấp thụ ở 223 nm, 267 nm, 373 nm và 444 nm. Tỷ lệ giữa độ hấp thụ ở 373 nm và 267 nm phải từ 0,31 đến 0,33 và tỷ lệ giữa độ hấp thụ ở 444 nm và 267 nm phải từ 0,36 đến 0,39.

Góc quay cực riêng

Từ -115° đến -135°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Pha dung dịch chế phẩm 0,5 % trong *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M không có carbonat* và đo trong vòng 30 phút.

Lumiflavin

Lắc 25 mg chế phẩm với 10 ml *cloroform (TT)* trong 5 phút và lọc. Dịch lọc không được có màu thâm hơn màu mẫu NV₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm sau khi thử ở mục Mất khối lượng do làm khô.

Định lượng

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Chuyển 65,0 mg chế phẩm vào bình định mức 500 ml màu nâu, thêm nước để chế phẩm hoàn toàn bằng 5 ml *nước*, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, lắc để hòa tan. Ngay sau khi chế phẩm tan hoàn toàn, thêm 100 ml *nước* và 2,5 ml *acid acetic băng (TT)*, thêm *nước* vừa đủ tới vạch. Hút 20,0 ml dung dịch, thêm 3,5 ml *dung dịch natri acetat 1,4 %* và *nước* vừa đủ 200,0 ml. Đo độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 444 nm. Tính hàm lượng C₁₇H₂₀N₄O₆ theo giá trị A (1 %, 1 cm) lấy 328 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 444 nm.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin nhóm B.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc tiêm.

VIÊN NÉN RIBOFLAVIN

Tabellae Riboflavini

Viên nén vitamin B₂

Là viên nén chứa riboflavin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng riboflavin, C₁₇H₂₀N₄O₆, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu vàng.

Định tính

Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1 mg riboflavin, thêm 100 ml *nước*, lắc kỹ, lọc. Dịch lọc có màu lục vàng nhạt và có huỳnh quang lục vàng đậm. Huỳnh quang mất đi khi thêm dung dịch kiềm hay acid vô cơ.

Định lượng

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg riboflavin, thêm hỗn hợp gồm 5 ml *acid acetic băng (TT)* và 100 ml *nước*, đun cách thủy 1 giờ, lắc liên tục. Thêm 50 ml *nước*, để nguội, thêm 30 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và lắc liên tục, pha loãng với *nước* thành 1000,0 ml, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc ở bước sóng cực đại khoảng 444 nm, trong cốc đo dày 1 cm. Tính hàm lượng riboflavin, C₁₇H₂₀N₄O₆, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 328 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 444 nm.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

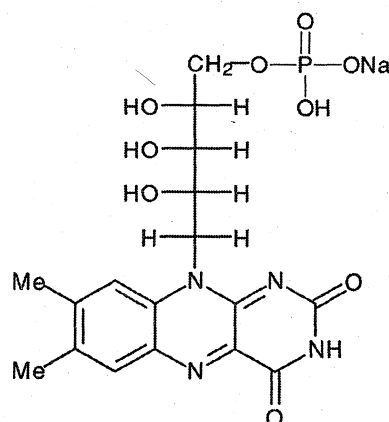
Vitamin nhóm B.

Hàm lượng thường dùng

2 mg.

RIBOFLAVIN NATRI PHOSPHAT

Riboflavini natrii phosphas



C₁₇H₂₀N₄NaO₉P.2H₂O

P.t.l: 514,4

Riboflavin natri phosphat là một hỗn hợp chứa thành phần chủ yếu là riboflavin 5'-(natri hydrophosphat) và các riboflavin natri monophosphat khác, phải chứa từ 73,0 % đến 79,0 % riboflavin (C₁₇H₂₀N₄O₆; P.t.l: 376,4),

tính theo chế phẩm đã làm khô. Chế phẩm có thể chứa lượng nước biến đổi.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng hay vàng cam, dễ hút ẩm. Tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính

A. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở dải sóng từ 230 nm đến 350 nm, dung dịch có cực đại hấp thụ ở bước sóng 266 nm với giá trị A (1 %, 1 cm) từ 580 đến 640.

B. Phương pháp sắc ký lỏng: Ở phần thử Tạp chất liên quan, pic chính của dung dịch thử phải có thời gian lưu và diện tích tương tự với thời gian lưu và diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (2).

C. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi. Để 1 ml dung dịch thu được dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm trong 5 phút, thêm một lượng *acid acetic (TT)* vừa đủ để acid hóa dung dịch với chỉ thị là *giấy quỳ xanh (TT)* và lắc với 2 ml *methylen clorid (TT)*. Lớp dưới phải có huỳnh quang vàng.

D. Cho 10 ml *acid nitric (TT)* vào 0,5 g chế phẩm, bốc hơi trên cách thủy đến khô. Nung cẩn đến trắng, hòa tan cẩn trong 5 ml *nước* và lọc. Dịch lọc cho phản ứng A của phép thử định tính ion natri và phản ứng B của phép thử định tính ion phosphat (Phụ lục 8.1).

pH

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. pH của dung dịch này phải từ 5,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +38,0° đến +43,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 18,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng *nước* để đo.

Lumiflavin

Cho 10 ml *methylen clorid (TT)* vào 35 mg chế phẩm và lắc trong 5 phút, lọc. Dịch lọc không được có màu đậm hơn màu mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành tránh ánh sáng.

Pha động: *Methanol - dung dịch kali dihydrophosphat 0,735 % (15 : 85)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 50 ml *nước* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 8,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 60 mg riboflavin chuẩn trong 1 ml *acid hydrocloric (TT)* và pha loãng thành 250,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 4,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 0,100 g riboflavin natri phosphat chuẩn trong 50 ml *nước* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 8,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 266 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 100 μl.

Cách tiến hành:

Khi tiến hành sắc ký với các điều kiện ghi trên thì thời gian lưu của pic riboflavin 5'-monophosphat khoảng 20 phút và thời gian lưu tương đối của pic riboflavin 3',4'-diphosphat khoảng 0,2; của pic riboflavin 3',5'-diphosphat khoảng 0,3; của pic riboflavin 4',5'-diphosphat khoảng 0,5; của pic riboflavin 3'-monophosphat khoảng 0,7; của pic riboflavin 4'-monophosphat khoảng 0,9; của pic riboflavin 5'-monophosphat khoảng 1; của pic riboflavin khoảng 2.

Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính không dưới 50 % thang đo. Tiêm dung dịch đối chiếu (2), chạy sắc ký đến khi pic riboflavin có thể đánh giá được rõ ràng. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) độ phân giải giữa pic riboflavin 4'-monophosphat và pic riboflavin 5'-monophosphat ít nhất là 1,5.

Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1), dung dịch đối chiếu (2). Tính hàm lượng % của riboflavin tự do và riboflavin ở dạng riboflavin diphosphat từ các diện tích pic tương ứng thu được từ dung dịch thử và lượng riboflavin tự do trong dung dịch đối chiếu (1). Hàm lượng riboflavin tự do không được quá 6,0 % và hàm lượng riboflavin ở dạng riboflavin diphosphat cũng không được quá 6,0 %, tính theo chế phẩm đã sấy khô.

Phosphat vô cơ

Không được quá 1,5 %.

Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Lấy 5 ml dung dịch này, thêm 10 ml *nước*, 5 ml *dung dịch đệm đồng sulfat pH 4,0 (TT)*, 2 ml *dung dịch amoni molybdat 3 %*, 1 ml dung dịch mới pha chứa 2 % *4-methylaminophenol sulfat (TT)* và 5 % *natri metabisulfite (TT)*, 1 ml dung

dịch acid *percloric* 3 % (tt/tt) và thêm nước vừa đủ 25,0 ml. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được trong vòng 15 phút (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 800 nm, dùng dung dịch chuẩn bị tương tự như trên nhưng không có chế phẩm làm mẫu trắng. Độ hấp thụ đo được không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị như sau: Lấy 15 ml *dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu (TT)*, thêm 5 ml *dung dịch đệm đồng sulfat pH 4,0 (TT)*, 2 ml *dung dịch amoni molybdat 3 %*, 1 ml *dung dịch mới pha chứa 2 % 4-methylaminophenol sulfat (TT)* và 5 % *natri metabisulfite (TT)*, 1 ml *dung dịch acid percloric 3 % (tt/tt)* và thêm nước vừa đủ 25,0 ml.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Cân 2,0 g chế phẩm vào chén nung, thêm từng giọt một 2 ml *acid nitric (TT)* và 0,25 ml *acid sulfuric (TT)*. Đun nóng cẩn thận đến khi khói trắng bay ra, nung. Chiết cẩn đã để nguội hai lần, mỗi lần với 2 ml *acid hydrocloric (TT)*. Bốc hơi dịch chiết tới khô. Hòa tan cẩn thu được trong 2 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và pha loãng thành 20 ml bằng nước. Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng 10 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; áp suất không quá 0,7 kPa; 5 h).

Định lượng

Tiến hành tránh ánh sáng.

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 150 ml nước, thêm 2 ml *acid acetic băng (TT)* và thêm nước thành 1000,0 ml. Lấy 10,0 ml dung dịch này, thêm 3,5 ml *dung dịch natri acetat 1,4 %* và thêm nước thành 50,0 ml. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 444 nm. Tính hàm lượng $C_{17}H_{20}N_4O_6$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 328 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 444 nm.

Bảo quản

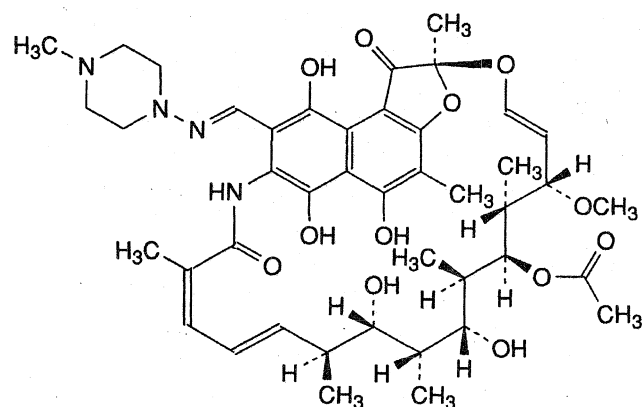
Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Chế phẩm

Thuốc tiêm B complex.

RIFAMPICIN

Rifampicinum



$C_{43}H_{58}N_4O_{12}$

P.t.l: 823

Rifampicin là (2*S*,12*Z*,14*E*,16*S*,17*S*,18*R*,19*R*,20*R*,21*S*,22*R*,23*S*,24*E*)-5,6,9,17,19-pentahydroxy-23-methoxy-2,4,12,16,18,20,22-heptamethyl-8-[[[4-methylpiperazin-1-yl]imino]methyl]-1,11-dioxo-1,2 hydro-2,7-(epoxypentadeca[1,11,13]trienimino)naphtho[2,1-*b*]furan-21-yl acetat, là kháng sinh bán tổng hợp từ rifamycin SV, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu nâu đỏ hoặc đỏ nâu. Khó tan trong nước, khó tan trong acetone và ethanol 96 %, tan trong methanol.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của rifampicin chuẩn. Chuẩn bị mẫu thử thành bột nhão trong *parafin lỏng (TT)*.

B. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 50 ml *methanol (TT)*, pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 50 ml với *dung dịch đệm phosphat pH 7,4 (TT)*. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ 220 nm đến 500 nm có 4 cực đại hấp thụ tại 237 nm, 254 nm, 334 nm và 475 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ tại bước sóng 334 nm và độ hấp thụ tại 475 nm bằng khoảng 1,75.

C. Lắc 25 mg chế phẩm với 25 ml nước trong 5 phút, lọc. Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 1 ml *dung dịch amoni persulfat (TT) 10 %* trong *dung dịch đệm phosphat pH 7,4 (TT)* và lắc trong vài phút. Màu của dung dịch chuyển từ vàng cam sang đỏ tím và không xuất hiện tủa.

pH

pH của hỗn dịch chế phẩm 1,0 % trong nước không có carbon dioxid (TT) phải từ 4,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp gồm 35 thể tích *acetonitril* (TT), 65 thể tích dung dịch có chứa 0,1 % (tt/tt) *acid phosphoric* (TT), 0,19 % *natri perclorat* (TT), 0,59 % *acid citric* (TT) và 2,09 % *kali dihydrophosphat* (TT).

Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp dung dịch *acid citric* 1 M - dung dịch *kali dihydrophosphat* 1 M - dung dịch *dikali hydrophosphat* 1 M - *acetonitril* - nước (10 : 23 : 77 : 250 : 640).

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *acetonitril* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml với dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20,0 mg rifampicin quinon chuẩn trong *acetonitril* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Hút 1,0 ml dung dịch thu được, thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml với dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (12 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu, điều chỉnh thang đo sao cho chiều cao của 2 pic ít nhất phải bằng một nửa toàn thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic ít nhất phải bằng 4,0 (điều chỉnh tỷ lệ *acetonitril* trong pha động nếu cần).

Tiêm dung dịch thử và tiến hành sắc ký với thời gian rửa giải ít nhất gấp hai lần thời gian lưu của rifampicin. Trên sắc ký đồ dung dịch thử, diện tích pic tương ứng với rifampicin quinon không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic của rifampicin quinon trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1,5 %). Diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn diện tích pic của rifampicin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %) và tổng diện tích các pic này không được lớn hơn 3,5 lần diện tích pic của rifampicin trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3,5 %).

Bỏ qua các pic của dung môi và các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic của rifampicin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 80 °C; áp suất không quá 670 Pa; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2)
 Dùng 2,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với dung dịch đệm *phosphat pH 7,4* (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) tại cực đại hấp thụ 475 nm, dùng dung dịch đệm *phosphat pH 7,4* (TT) làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 187 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 475 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín và trong khí nitơ, tránh ánh sáng, nhiệt độ không được quá 25 °C.

Loại thuốc

Thuốc chống lao.

Chế phẩm

Viên nang, bột pha hỗn dịch uống.

NANG RIFAMPICIN***Capsulae Rifampicini***

Là nang cứng chứa rifampicin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc nang” (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang màu đồng nhất, mặt nang nhẵn, không méo mó. Bột thuốc trong nang màu đỏ nâu đồng nhất.

Định tính

A. Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 0,15 g rifampicin với 5 ml *cloroform* (TT). Lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của rifampicin.

B. Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở phần định lượng trong khoảng từ 220 nm đến 500 nm phải có 4 cực đại hấp thụ ở các bước sóng 237 nm, 254 nm, 334 nm và 475 nm.

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril* - dung dịch đệm (35 : 65).

Dung dịch đệm: Dung dịch chứa 0,1 % (tt/tt) *acid phosphoric* (TT), 0,19 % *natri perclorat* (TT), 0,59 % *acid citric* (TT) và 2,09 % *kali dihydrophosphat* (TT).

Hỗn hợp dung môi: Dung dịch *acid citric* 21,01 % - dung dịch *kali dihydrophosphat* 13,61 % - dung dịch

dikali hydrophosphat 17,42 % - *acetonitril* - nước (10 : 23 : 77 : 250 : 640).

Chú ý: Chuẩn bị các dung dịch trên ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch (1): Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 20 mg rifampicin với 10 ml *acetonitril* (TT), ly tâm. Hút 5 ml lớp chất lỏng trong ở trên pha loãng thành 50 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch (2): Hút chính xác 1 ml dung dịch (1) và pha loãng thành 100 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch (3): Chứa 0,00080 % chất đối chiếu rifampicin quinon trong hỗn hợp dung môi.

Dung dịch (4): Chứa 0,00030 % chất đối chiếu rifampicin N-oxyd trong hỗn hợp dung môi.

Dung dịch (5): Chứa 0,00010 % chất đối chiếu 3-formylrifamycin trong hỗn hợp dung môi.

Dung dịch (6): Pha loãng 1 thể tích dung dịch (3) thành 4 thể tích với hỗn hợp dung môi rồi trộn 1 thể tích dung dịch thu được với 1 thể tích dung dịch (2).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh B (5 µm) (Partisil C8 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch (6). Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic chính trên sắc ký đồ thu được tối thiểu là 4,0. Điều chỉnh tỷ lệ *acetonitril* trong pha động nếu cần.

Tiến hành sắc ký với dung dịch (1) trong khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic rifampicin. Trong sắc ký đồ của dung dịch (1), diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với pic của rifampicin quinon không được lớn hơn diện tích của pic thu được trong sắc ký đồ của dung dịch (3) (4 %); diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng rifampicin N-oxyd không được lớn hơn diện tích của pic thu được trong sắc ký đồ của dung dịch (4) (1,5 %); diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng 3-formylrifamycin không được lớn hơn diện tích của pic thu được trong sắc ký đồ của dung dịch (5) (0,5 %). Diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn diện tích pic thu được trong sắc ký đồ của dung dịch (2) (1 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng nếu cần với dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT). Đo độ hấp

thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được ở cực đại 336 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, được hòa tan từ nang theo A (1 %, 1 cm). Lấy 263 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 336 nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng rifampicin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc (đã trộn đều của 20 nang) tương ứng với 0,1 g rifampicin, chuyển vào bình định mức 100 ml và lắc kỹ với 80 ml *methanol* (TT). Thêm *methanol* (TT) đến định mức, trộn đều và lọc. Lấy chính xác 2 ml dịch lọc pha loãng thành 100 ml bằng đệm phosphat chuẩn pH 7,4 (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 475 nm, dùng đệm phosphat chuẩn pH 7,4 (TT) làm mẫu trắng. Tính lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, trong nang theo A (1 %, 1 cm). Lấy 187 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 475 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng lao.

Hàm lượng thường dùng

150 mg; 300 mg.

NANG RIFAMPICIN VÀ ISONIAZID

Capsulae Rifampicini et Isoniazidi

Là nang cứng chứa rifampicin và isoniazid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, từ 90,0 % đến 130,0 %, so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, từ 90,0 % đến 110,0 %, so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng nhẵn bóng, không méo mó, bột thuốc bên trong màu đỏ nâu, đồng nhất.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Aceton* - *acid acetic* băng (100 : 1).

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột thuốc trong nang đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 120 mg rifampicin với 20 ml *methanol* (TT) và lọc. Pha loãng dịch lọc với đồng thể tích *aceton* (TT) và trộn đều.

Dung dịch đối chiếu (1): Chuẩn bị dung dịch rifampicin chuẩn có nồng độ 6 mg/ml trong *methanol* (TT). Pha loãng dung dịch trên với đồng thể tích *acetone* (TT) và trộn đều.

Dung dịch đối chiếu (2): Chuẩn bị dung dịch isoniazid chuẩn có nồng độ 3 mg/ml trong *methanol* (TT). Pha loãng dung dịch trên với đồng thể tích *acetone* (TT) và trộn đều.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2) về vị trí, màu sắc và kích thước.

B. Trong phần Định lượng, hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Môi trường: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Dung dịch đệm phosphat: Hòa tan 15,3 g *dikali hydro phosphat* (TT) và 80,0 g *kali dihydro phosphat* (TT) vào bình định mức 1 lít, hòa tan và pha loãng bằng nước cất vừa đủ đến định mức.

Dung dịch chuẩn gốc isoniazid: Cân chính xác khoảng 66 mg isoniazid chuẩn vào bình định mức 100 ml. Hòa tan và pha loãng bằng dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) đến định mức, trộn đều.

Dung dịch chuẩn gốc hỗn hợp: Cân chính xác khoảng 66 mg rifampicin chuẩn vào bình định mức 200 ml, hòa tan trong 10 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) và trộn đều. Thêm chính xác 50,0 ml dung dịch chuẩn gốc isoniazid và thêm dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) đến định mức, trộn đều. (Dung dịch chuẩn gốc hỗn hợp được chuẩn bị ngay trước khi thử và được đặt trong bồn cách thủy của máy thử độ hòa tan cùng thời điểm bắt đầu và được lấy ra khi kết thúc phép thử độ hòa tan, cùng lúc với việc hút mẫu thử).

Định lượng rifampicin hòa tan

Dung dịch chuẩn: Hút chính xác 5,0 ml dung dịch chuẩn gốc hỗn hợp và 10,0 ml dung dịch đệm phosphat vào bình định mức 50 ml, thêm nước cất đến định mức, trộn đều (Dung dịch này được sử dụng ngay hoặc trong vòng không quá 3 giờ).

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc và bỏ dịch lọc đầu, để dịch lọc cân bằng về nhiệt độ phòng trong khoảng 10 phút. Hút chính xác 5,0 ml dịch lọc và 10,0 ml dung dịch đệm phosphat vào bình định mức 50 ml, thêm nước cất đến

định mức, trộn đều (Dung dịch này được sử dụng ngay hoặc trong vòng không quá 3 giờ).

Cách tiến hành: Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại khoảng 475 nm, với mẫu trắng được chuẩn bị như sau: Hút chính xác 5,0 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) và 10,0 ml dung dịch đệm phosphat vào bình định mức 50 ml, thêm nước cất đến định mức, trộn đều.

Tính hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, hòa tan so với lượng ghi trên nhãn dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử và hàm lượng $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ của rifampicin chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % lượng rifampicin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng isoniazid hòa tan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - dung dịch đệm phosphat - *methanol* (850 : 100 : 50).

Dung dịch chuẩn: Sử dụng dung dịch chuẩn trong mục định lượng rifampicin hòa tan.

Dung dịch thử: Sử dụng dung dịch thử trong mục định lượng rifampicin hòa tan.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (30 cm $\times$ 4,0 mm) được nhồi pha tinh C (10 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 μ l.

Tiến hành: Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, hòa tan căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_6H_7N_3O$ của isoniazid chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).

Cân chính xác khoảng 100 mg bột thuốc vào bình sấy nắp đậy có mao quản và sấy trong chân không ở 60 °C trong 3 giờ.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Hòa tan 1,4 g *dinatri hydro phosphat* (TT) trong 1 lít nước cất và điều chỉnh tới pH 6,8 bằng acid phosphoric (TT).

Dung môi A: Acetonitril - dung dịch đệm (4 : 96).

Dung môi B: Acetonitril - dung dịch đệm (55 : 45).

Pha động: Hỗn hợp của dung môi A và dung môi B theo phần điều kiện sắc ký.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cân chính xác của rifampicin chuẩn và isoniazid chuẩn trong hỗn hợp của dung dịch đệm - *methanol* (96 : 4) để thu

được dung dịch có nồng độ khoảng 0,16 mg/ml rifampicin và 0,08 mg/ml isoniazid (Dung dịch này được sử dụng trong vòng 10 phút).

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc, tương ứng với khoảng 16 mg rifampicin và 8 mg isoniazid vào bình định mức 100 ml, thêm 90 ml dung dịch đệm và lắc siêu âm 10 phút. Để dung dịch cân bằng về nhiệt độ và pha loãng bằng dung dịch đệm vừa đủ đến vạch và trộn đều, lọc (Dung dịch này được sử dụng trong vòng 2 giờ).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 238 nm.

Chương trình gradient dung môi:

Thời gian (min)	Dung môi A (%)	Dung môi B (%)	Ghi chú
0	100	0	Cân bằng cột
0 - 5	100	0	Đẳng dòng
5 - 6	100 → 0	0 → 100	Gradient
6 - 15	0	100	Đẳng dòng

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn và ghi lại sắc đồ: thời gian lưu tương đối khoảng 2,6 đối với rifampicin và 1,0 đối với isoniazid. Phép thử chỉ có giá trị khi số đĩa lý thuyết, tính cho pic rifampicin, không dưới 50000 và tính cho pic isoniazid, không dưới 6000; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, và isoniazid, $C_6H_7N_3O$, có trong một đơn vị chế phẩm căn cứ vào diện tích pic thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng các chất chuẩn.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống lao.

Hàm lượng thường dùng

Rifampicin 300 mg và isoniazid 150 mg.

VIÊN NÉN RIFAMPICIN

Tabellae Rifampicini

Là viên nén bao đường chứa rifampicin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén”, mục “Viên bao” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao đường nhẵn, không nứt cạnh, không dính tay, khi bỏ hết lớp vỏ bao viên, nhân có màu đỏ nâu.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên đã loại bỏ vỏ bao và nghiền mịn tương ứng 0,15 g rifampicin với 5 ml *cloroform* (TT). Lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của rifampicin.

B. Phổ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở phân định lượng trong khoảng từ 220 nm đến 500 nm phải có 4 cực đại hấp thụ ở 237 nm, 254 nm, 334 nm và 475 nm.

Tạp chất liên quan

Tiến hành thử và đánh giá kết quả như chỉ dẫn trong phần “Tạp chất liên quan” của chuyên luận “Nang rifampicin”, trừ dung dịch (1) được chuẩn bị như sau: Lắc một lượng bột viên đã loại bỏ vỏ bao tương ứng 20 mg rifampicin với 10 ml *acetonitril* (TT), ly tâm. Hút 5 ml lớp chất lỏng trong ở trên pha loãng với 50 ml hỗn hợp dung môi.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,6 % (tt/tt).

Tốc độ quay: 150 r/min.

Thời gian: 60 min.

Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc và bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với dung dịch đệm phosphat được chuẩn bị bằng cách hòa tan 3,02 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong 1000 ml *nước* để thu được dung dịch có nồng độ 20 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 475 nm, dùng dung dịch đệm phosphat làm mẫu trắng. Tính lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, được hòa tan từ viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 187 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 475 nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng rifampicin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 phút.

Định lượng

Loại bỏ vỏ bao của 20 viên. Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên đã loại bỏ vỏ bao và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g rifampicin và tiếp tục tiến

hành theo chỉ dẫn trong phần “Định lượng” của chuyên luận “Nang rifampicin”, bắt đầu từ “chuyển vào bình định mức 100 ml và lắc kỹ với 80 ml *methanol* (TT)....”

Tính hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 187 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 475 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng lao.

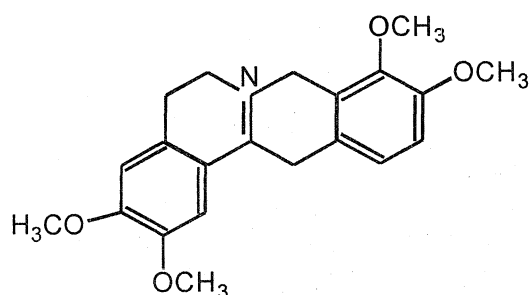
Hàm lượng thường dùng

150 mg, 300 mg.

ROTUNDIN

Rotundinum

L-Tetrahydropalmatin



$C_{21}H_{25}NO_4$

P.t.l : 355,4

Rotundin là 5,8,13,13 α -tetrahydro-2,3,9,10-tetramethoxy-6H-dibenzo[a,g] quinolizin, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{21}H_{25}NO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể màu trắng hay hơi vàng, không mùi, không vị. Bị chuyển thành màu vàng khi tiếp xúc với ánh sáng hoặc nhiệt. Tan trong cloroform, hơi tan trong ethanol và ether, không tan trong nước, dễ tan trong acid sulfuric loãng.

Điểm chảy

141 °C đến 144 °C (Phụ lục 6.7).

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của rotundin chuẩn.

B. Dung dịch S: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml nước và 1 ml dung dịch acid sulfuric loãng (TT).

Thêm 1 giọt dung dịch kali dicromat 5 % (TT) vào 2 ml dung dịch S, tua vàng xuất hiện.

Thêm 1 giọt dung dịch natri clorid bão hòa (TT) vào 2 ml dung dịch S, tua trắng xuất hiện.

Thêm 1 giọt dung dịch kali fericyanid 5 % (TT) vào 2 ml dung dịch S, tua vàng xuất hiện, tua này dần dần

chuyển sang màu xanh lá rồi cuối cùng là màu xanh lam khi đun nóng nhẹ.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,15 g chế phẩm trong 5 ml dung dịch acid sulfuric 5 % (TT). Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VL₄ (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Góc quay cực riêng

-290° đến -300°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chế phẩm có nồng độ 8 mg/ml trong ethanol 96 % (TT) để đo ở nhiệt độ 25 °C.

Độ hấp thụ riêng

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm có nồng độ 30 μ g/ml trong dung dịch acid sulfuric 0,5 % ở bước sóng 281 nm. Giá trị A (1 %, 1 cm) phải từ 150 đến 160.

Các alkaloid khác

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethanol - amoniac đậm đặc (98 : 2 : 0,5).

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm có nồng độ 10 mg/ml trong ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích với ethanol (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và hiện màu bằng hơi iod. Bất cứ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử đều không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,00 g ; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,300 g chế phẩm, hòa tan trong 2 ml dung dịch acid acetic 6 M (TT) và 15 ml nước trong bình định mức 50 ml bằng cách đun nóng, lắc đều. Thêm 25,0 ml dung dịch kali iodid 1,7 % và thêm nước đến vạch, lắc đều, lọc qua giấy lọc khô. Bỏ 10 ml dịch lọc đầu, lấy 25,0 ml dịch lọc, thêm 3 giọt đến 5 giọt dung dịch natri eosin (TT), chuẩn độ bằng dung dịch bạc nitrat 0,05 N (CD) đến khi xuất hiện tua vón cục màu hồng. Song song làm mẫu trắng.

1 ml dung dịch bạc nitrat 0,05 N (CD) tương đương với 17,77 mg $C_{21}H_{25}NO_4$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc giảm đau.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN ROTUNDIN**Tabellae Rotundini**

Là viên nén chứa L-tetrahydropalmatin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng rotundin, $C_{21}H_{25}NO_4$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng hoặc vàng nhạt.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g rotundin, thêm 10 ml nước và 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*, lắc để hòa tan, lọc. Dịch lọc làm các phản ứng sau:

Thêm vào 2 ml dịch lọc 1 giọt *dung dịch kali dicromat 5 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng.

Thêm vào 2 ml dịch lọc 1 giọt *dung dịch natri clorid bão hòa (TT)*, xuất hiện tủa trắng.

Thêm vào 2 ml dịch lọc 1 giọt *dung dịch kali fericyanid 5 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng, màu tủa chuyển dần sang xanh lục sau đó sang xanh lam khi đun nóng nhẹ.

B. Lắc một lượng bột viên với *ethanol 96 % (TT)* để được một hỗn dịch chứa 8 mg rotundin trong 1 ml, lọc. Dịch lọc có góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4) không nhỏ hơn -270° , tính theo lượng ghi trên nhãn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần môi trường đã hòa tan chế phẩm, lọc và pha loãng dịch lọc nếu cần với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 281 nm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng rotundin, $C_{21}H_{25}NO_4$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 155 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 281 nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % lượng rotundin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

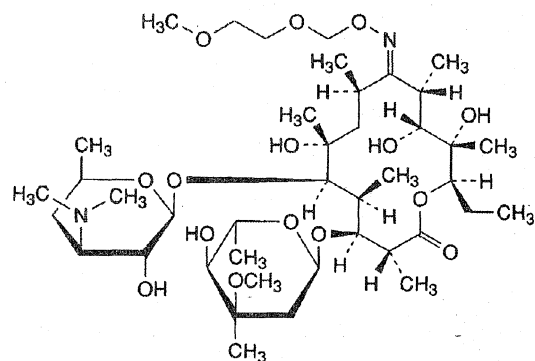
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 60 mg rotundin vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 40 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 %*, lắc kỹ để hòa tan rotundin, thêm đến định mức với cùng dung môi, lắc đều và lọc. Hút chính xác 5 ml dịch lọc vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm *dung dịch acid sulfuric 0,5 %* đến định mức, lắc đều. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng 281 nm, trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch acid sulfuric 0,5 %*. Tính hàm lượng rotundin, $C_{21}H_{25}NO_4$, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 155 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 281 nm.

Bảo quản

Đề trong lọ kín, ở nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng

30 mg và 60 mg.

ROXITHROMYCIN**Roxithromycinum**

$C_{41}H_{76}N_2O_{15}$

P.t.l: 837,0

Roxithromycin là (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*S*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- α -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-10-[(*E*)-[(2-methoxyethoxy)methoxy]imino]-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -*D*-xylo-hexapyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2-on, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, đa hình. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong aceton, ethanol 96 % và methylen clorid. Khó tan trong dung dịch acid hydrocloric loãng.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của roxithromycin chuẩn.

Nếu có sự khác biệt, đo lại phổ của dung dịch chế phẩm và chất chuẩn có nồng độ 9,0 % trong *methylen clorid* (TT).

B. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) ở phần định lượng phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *methanol* (TT), pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ -93° đến -96°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *aceton* (TT), pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: *Acetonitril* - dung dịch amoni dihydrophosphat 5,97 % đã được chỉnh pH đến 4,3 bằng dung dịch natri hydroxyd loãng (26 : 74).

Pha động B: *Nước* - *acetonitril* (30 : 70).

Dung môi pha mẫu: *Acetonitril* - dung dịch amoni dihydrophosphat 4,86 % đã được chỉnh pH đến 5,3 bằng dung dịch natri hydroxyd loãng (TT) (30 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu, pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg roxithromycin chuẩn trong dung môi pha mẫu, pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml với dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20,0 mg roxithromycin để xác định độ thích hợp hệ thống trong dung môi pha mẫu, pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml *toluen* (TT) thành 100,0 ml với *acetonitril* (TT). Pha loãng 0,2 ml dung dịch thu được thành 200,0 ml với dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là hạt hình cầu end-capped octadecylsilyl silica gel (5 μm) với kích thước lỗ xốp 10 nm và carbon gắn kết khoảng 19 %. Duy trì nhiệt độ cột ở 15 °C.

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 205 nm.

Thể tích tiêm: 20 μl, duy trì nhiệt độ buồng tiêm ở 8 °C.

Tốc độ dòng: 1,1 ml/min với chương trình dung môi:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 50	100	0
50 - 51	100 → 90	0 → 10
51 - 80	90	10
80 - 81	90 → 100	10 → 0
81 - 100	100	0

Tiến hành: Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2), (3) và (4).

Thời gian lưu tương đối: Thời gian lưu tương đối so với roxithromycin (thời gian lưu khoảng 22 phút) của tạp chất G {erythromycin 9-(E)-[O-[[[2-methoxyethoxy] methoxy] methyl]oxim]]} khoảng 1,15.

Độ thích hợp của hệ thống:

Tỷ số peak-valley (H_P/H_V): Ít nhất phải bằng 2,0 (tỷ số này được áp dụng để đánh giá độ thích hợp hệ thống trong phép thử tạp chất liên quan, khi 2 pic không tách hoàn toàn tới chân đường nền). H_P là chiều cao tính từ đường nền của pic tạp chất G; H_V là chiều cao tính từ đường nền đến điểm thấp nhất của đường cong phân tách giữa pic tạp chất G và pic của roxithromycin trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3).

Giới hạn:

Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G trên sắc ký đồ dung dịch thử không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Từng tạp chất có diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (3,0 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %). Bỏ qua pic của toluen (dùng dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic toluen).

Kim loại nặng

Không quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *nước* - *aceton* (15 : 85), pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thử tiến hành theo phương pháp 2. Chuẩn bị mẫu đối chiếu bằng cách pha loãng dung dịch chỉ mẫu 100 phần triệu (TT) với hỗn hợp *nước* - *aceton* (15 : 85) để được dung dịch chỉ 1 phần triệu.

Nước

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như ở phần thử tạp chất liên quan với một số thay đổi như sau:

Kích thước cột: 25 cm × 4,6 mm.

Pha động: Acetonitril - dung dịch *amoni dihydro-phosphat* 4,91 % đã được điều chỉnh pH đến 5,3 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* (307 : 693).

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Tiến hành: Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (3).

Thời gian lưu của roxithromycin khoảng 12 phút.

Độ thích hợp hệ thống:

Tỷ số peak-valley (H_p/H_v): Ít nhất phải bằng 1,5. H_p là chiều cao tính từ đường nền của pic tạp chất G; H_v là chiều cao tính từ đường nền đến điểm thấp nhất của đường cong phân tách giữa pic tạp chất G và pic của roxithromycin trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3).

Tính toán hàm lượng của $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$ dựa vào diện tích pic chính của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản

Đựng trong đồ bao gói kín.

Nhãn

Phải quy định rõ thời hạn sử dụng và điều kiện bảo quản.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc bột.

THUỐC BỘT ROXITHROMYCIN***Pulveres Roxithromycini***

Là thuốc bột chứa roxithromycin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng roxithromycin, $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột khô toi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính

Trong phần định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic roxithromycin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Giới hạn kiểm

Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với 15 mg roxithromycin, thêm 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lắc kỹ. pH của hỗn dịch thu được từ 7,0 đến 9,0 (Phụ lục 6.2).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6).

Cân chính xác khoảng 1,0 g chế phẩm, sấy ở 80 °C trong chân không đến khối lượng không đổi.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn, dung dịch thử, điều kiện sắc ký, cách tiến hành: thực hiện như mô tả ở mục Định lượng trong chuyên luận "Viên nén roxithromycin", thay bột viên bằng bột thuốc đã dùng trong phép thử Độ đồng đều khối lượng.

Bảo quản

Trong gói giấy nhôm hoặc polyetylen kín.

Đề nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

50 mg; 150 mg.

VIÊN NÉN ROXITHROMYCIN***Tabellae Roxithromycini***

Là viên nén bao phim chứa roxithromycin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén", mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng roxithromycin, $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao phải nhẵn, không nứt cạnh, không dính tay, đồng đều về màu sắc. Bên trong của viên bao có màu trắng.

Định tính

Trong phần định lượng, thời gian lưu pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic roxithromycin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Môi trường: 900 ml *dung dịch acid hydrochloric* 0,1 % (tt/tt) (sử dụng 600 ml cho viên có hàm lượng 50 mg).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc thu được với môi trường hòa tan để thu được dung dịch thử có nồng độ roxithromycin khoảng 80 µg/ml (nếu cần). Cân chính xác một lượng bột viên của 10 viên nén đã nghiền mịn, tương ứng với khối lượng trung bình viên, và hòa tan trong *ethanol (TT)*

(1 ml ethanol cho 5 mg roxithromycin) và pha loãng bằng môi trường hòa tan đến vừa đủ 100,0 ml. Lọc và bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng một thể tích chính xác của dịch lọc bằng môi trường hòa tan để thu được dung dịch chuẩn có nồng độ roxithromycin 80 µg/ml (tính theo lượng roxithromycin trong phép định lượng). Lấy chính xác 5,0 ml mỗi dung dịch thử và dung dịch chuẩn, thêm chính xác 5,0 ml *dung dịch acid sulfuric* 75 % (tt/tt), lắc đều. Để yên trong 30 phút, sau đó làm nguội về nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch thu được ở bước sóng 482 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là 5,0 ml môi trường hòa tan được tiến hành như với dung dịch thử.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % lượng roxithromycin, $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch phân giải, điều kiện sắc ký: Tiến hành theo phần "Định lượng".

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên đã loại bỏ lớp bao phim và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg roxithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động và lắc siêu âm 15 phút. Pha loãng bằng pha động đến định mức, lắc đều, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử bằng pha động đến vừa đủ 100,0 ml.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử, ghi sắc ký đồ trong khoảng thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic roxithromycin. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào cũng không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Thêm 510 ml nước vào 200 ml *dung dịch amoni dihydrophosphat* 17 %, điều chỉnh đến pH 5,3 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng* (TT). Thêm 315 ml *acetonitril* (TT) vào dung dịch thu được, trộn đều.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng roxithromycin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 1,0 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên đã loại bỏ lớp bao phim và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg roxithromycin khan vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động và lắc siêu âm 15 phút. Pha loãng bằng pha động đến định mức, lắc đều, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 205 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic roxithromycin không lớn hơn 1,5 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic roxithromycin trong các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của roxithromycin chuẩn, tính hàm lượng roxithromycin, $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$, có trong một đơn vị chế phẩm.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

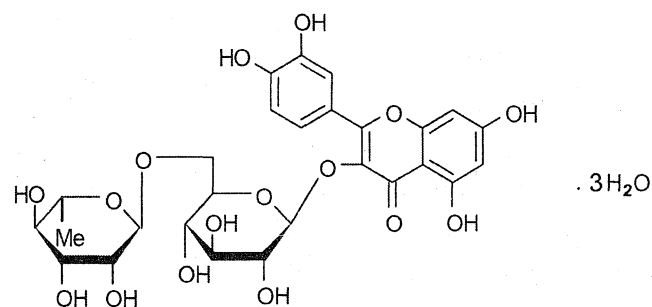
Hàm lượng thường dùng

50 mg; 75 mg; 150 mg.

RUTIN

Rutinum

Rutosid, vitamin P



$C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$

P.t.l: 665,0

Rutin là 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavon 3-rutinosid, một glucosid chiết được từ nụ hoa cây Hòe (*Sophora japonica* L.), họ Đậu (Fabaceae), hoặc từ nhiều cây khác thuộc các họ thực vật khác nhau, phải chứa từ 95,0 % đến 101,0 % $C_{27}H_{30}O_{16}$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng hay vàng lục.

Tan trong methanol và trong các dung dịch hydroxyd kiềm, hơi tan trong ethanol, thực tế không tan trong nước và dicloromethan.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của rutin chuẩn.

B. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 250,0 ml với cùng dung môi, lọc nếu cần. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng *methanol* (TT). Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng từ 210 nm đến 450 nm, dung dịch phải cho hai cực đại hấp thụ ở 257 nm và 358 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại 358 nm phải từ 305 đến 330, tính theo chế phẩm khan.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *N-butanol - acid acetic khan - nước - methyl ethyl ceton - ethyl acetat* (5 : 10 : 10 : 30 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg rutin chuẩn trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Phun lên bản mỏng hỗn hợp gồm 7,5 ml *dung dịch kali fericyanid 1 %* (TT) và 2,5 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 %* (TT). Quan sát bản mỏng trong vòng 10 phút. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

D. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 5 ml *ethanol 96 %* (TT). Thêm 1 g *kẽm* (TT) và 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 %* (TT), sẽ xuất hiện màu đỏ.

Tạp chất hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 40 ml *2-propanol* (TT). Lắc trong 15 phút và pha loãng thành 50,0 ml bằng *2-propanol* (TT), lọc. Độ hấp thụ của dịch lọc ở các bước sóng trong khoảng từ 450 nm đến 800 nm không được quá 0,10.

Các chất không tan trong methanol

Không được quá 3 %.

Lắc 2,5 g chế phẩm với 50 ml *methanol* (TT) ở 20 °C đến 25 °C trong 15 phút. Lọc qua phễu lọc thủy tinh có độ xốp 1,6 đã được sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 15 phút và để nguội trong bình hút ẩm rồi cân bì. Rửa phễu lọc 3 lần với 20 ml *methanol* (TT). Sấy phễu lọc ở 100 °C đến 105 °C trong 30 phút. Để nguội trong bình hút ẩm và cân. Khối lượng cân thu được không được quá 75 mg.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động:

Pha động A: Hỗn hợp gồm 5 thể tích *tetrahydrofuran* (TT) và 95 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat 1,56 %* đã được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric* (TT).

Pha động B: Hỗn hợp gồm 40 thể tích *tetrahydrofuran* (TT) và 60 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat 1,56 %* đã được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric* (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 20 ml *methanol* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động B.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg rutin chuẩn trong 10,0 ml *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 50,0 ml bằng pha động B.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).

Duy trì nhiệt độ cột ở 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min với chương trình dung môi:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	50 → 0	50 → 100
10 - 15	0	100
15 - 16	0 → 50	100 → 50
16 - 20	50	50

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Thời gian lưu tương đối của các tạp chất so với rutin (thời gian lưu khoảng 7 phút) như sau: Tạp chất B (kaempferol 3-rutinosid) khoảng 1,1; tạp chất A (isoquercitrosid) khoảng 1,2; tạp chất C (quercetin) khoảng 2,5.

Kiểm tra tính thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Tỷ số giữa chiều cao so với đường nền của pic tương ứng với tạp chất B và chiều cao so với đường nền của điểm thấp nhất trên đường cong tách giữa 2 pic rutin và tạp chất B, không được dưới 10.

Xác định vị trí các tạp chất bằng cách so sánh với sắc ký đồ thu được của rutin chuẩn.

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp với các hệ số tương ứng là 0,8 cho tạp chất A và 0,5 cho tạp chất C.

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử: diện tích của pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2 %); diện tích của pic tương ứng với tạp chất B không được lớn hơn diện tích của

pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2 %); diện tích của pic tương ứng với tạp chất C không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2 %); tổng diện tích của tất cả các pic phụ ngoài pic chính, không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (4 %). Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Nước

Từ 7,5 % đến 9,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,100 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 20 ml *dimethylformamid* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch tetrabutylamonihydroxyd 0,1 M* (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch tetrabutylamonihydroxyd 0,1 M* (CĐ), tương đương với 30,53 mg $C_{27}H_{30}O_{16}$.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Bảo vệ thành mạch.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN RUTIN

Tabellae Rutini

Là viên nén chứa rutin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng rutin, $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu vàng hơi xanh.

Định tính

A. Trong mục định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic rutin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Lấy một lượng bột viên tương đương với khoảng 0,05 g rutin, thêm 20 ml *ethanol 90 %* nóng. Lắc kỹ để hòa tan rutin. Lọc. Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt

acid hydrocloric đậm đặc (TT) và một lượng nhỏ *kẽm bột* (TT). Dung dịch chuyển sang màu đỏ.

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 3 %* sẽ xuất hiện màu nâu hơi lục.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol - dung dịch đệm phosphat pH 3,0 - tetrahydrofuran* (10 : 70 : 20).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg rutin chuẩn vào trong bình định mức 50 ml, hòa tan và pha loãng bằng *methanol* (TT) đến định mức, trộn đều. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động, trộn đều.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg rutin chuyển vào trong 1 bình định mức 50 ml, thêm 35 ml *methanol* (TT), lắc siêu âm 15 phút và thêm *methanol* (TT) đến định mức, trộn đều, lọc qua giấy lọc, bỏ phần dịch lọc đầu. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động, trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Nhiệt độ cột : 40 °C

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic rutin trong 6 lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng rutin, $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$ trong rutin chuẩn.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng

20 mg, 50 mg, 100 mg.

VIÊN NÉN RUTIN VÀ ACID ASCORBIC

Tabellae Rutini et Acidi ascorbici

Là viên nén bao đường có chứa đồng lượng rutin và acid ascorbic.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén", mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng rutin, $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng acid ascorbic, $C_6H_8O_6$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao nhãn, không nứt cạnh, không dính tay, đồng đều về màu sắc.

Định tính

Cân một lượng bột viên đã loại bỏ lớp bao màu tương ứng với 0,2 g acid ascorbic, thêm 20 ml nước, lắc kỹ trong 5 phút, lọc. Cân để thử rutin, dịch lọc (A) để thử acid ascorbic.

A. Rửa cần ở trên 3 lần, mỗi lần với 10 ml nước. Chuyển giấy lọc cùng cần vào cốc có mỏ, thêm 10 ml ethanol (TT) nóng, khuấy kỹ, lọc (dịch lọc B). Lấy 3 ml dịch lọc B, thêm 5 giọt acid hydrocloric (TT) và khoảng 10 mg kẽm bột (TT), màu của dung dịch chuyển dần sang đỏ.

B. Lấy 5 ml dịch lọc B, thêm 1 giọt dung dịch sắt (III) clorid 3 % (TT) xuất hiện màu nâu hơi lục.

C. Lấy 5 ml dịch lọc A, thêm 0,5 ml dung dịch bạc nitrat 2 % (TT), để yên sẽ xuất hiện tủa xám đen.

D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi triển khai: Ethanol - nước (120 : 20).

Dung dịch thử: Lấy 5 ml dịch lọc A, pha loãng thành 10 ml với nước.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch acid ascorbic đối chiếu 0,5 %.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Cân 20 viên đã loại bỏ lớp bao màu, nghiền thành bột mịn.

Định lượng rutin

Cân chính xác một lượng bột viên p (mg) tương ứng với khoảng 75 mg rutin vào cốc có mỏ, thêm 30 ml ethanol (TT) nóng và đặt trên cách thủy, khuấy kỹ và lọc. Rửa cốc và giấy lọc 3 lần, mỗi lần với 20 ml ethanol (TT) nóng. Gộp các dịch rửa và dịch lọc, để nguội. Thêm ethanol (TT) vừa đủ 100,0 ml, lắc đều. Lấy 2,0 ml dung dịch thu được, thêm 1 ml dung dịch acid acetic 0,02 M (TT), pha loãng thành 100,0 ml với ethanol (TT), lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 362,5 nm và 375 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng ethanol (TT) chứa 1% (tt/tt) dung dịch acid acetic 0,02 M (TT) làm mẫu trắng.

Nếu tỷ số $A_{375}/A_{362,5}$ nhỏ hơn hoặc bằng 0,879, hàm lượng rutin, $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$, trong một viên (mg) được tính theo công thức sau:

$$X(\text{mg}) = \frac{A_{362,5} \times b \times 50 \times 664}{325,5 \times p \times 610}$$

Trong đó:

b là khối lượng trung bình viên (mg);

325,5 là $A(1\%, 1 \text{ cm})$ của rutin tinh khiết khan đo ở bước sóng 362,5 nm;

610 là phân tử lượng của rutin khan $C_{27}H_{30}O_{16}$;

664 là phân tử lượng của rutin ngậm 3 phân tử nước, $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$.

Nếu tỷ số $A_{375}/A_{362,5}$ lớn hơn 0,879, hàm lượng rutin, $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$, trong một viên (mg) được tính theo công thức sau:

$$X(\text{mg}) = \frac{[(14,6 \times A_{362,5}) - (13,18 \times A_{375})] \times b \times 50 \times 664}{p \times 610}$$

Định lượng acid ascorbic

Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg acid ascorbic, thêm 50 ml hỗn hợp gồm nước mới đun sôi để nguội và dung dịch acid acetic 1 M (TT) (10 : 1), lắc kỹ. Thêm 1 ml dung dịch hồ tinh bột (TT) và định lượng bằng dung dịch iod 0,1 N (CĐ) cho đến khi xuất hiện màu xanh lam bền vững ít nhất trong 30 giây.

1 ml dung dịch iod 0,1 N (CĐ) tương đương với 8,806 mg $C_6H_8O_6$.

Bảo quản

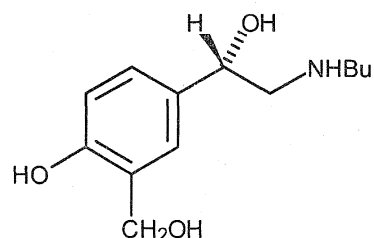
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng, tránh để tiếp xúc với kim loại.

Hàm lượng thường dùng

Rutin 50 mg, acid ascorbic 50 mg.

SALBUTAMOL

Salbutamolum



và đồng phân đối quang

$C_{13}H_{21}NO_3$

P.t.l: 239,3

Salbutamol là (1RS)-2-[(1,1-Dimethylethyl)amino]-1-[4-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenyl]ethanol, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{13}H_{21}NO_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột tinh thể trắng hay gần như trắng, chảy ở khoảng 155 °C kèm theo phân hủy.

Hơi tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C, D.

Nhóm II: A.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của salbutamol chuẩn.

B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm 0,008 % trong dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) trong dải sóng từ 230 nm đến 350 nm phải cho cực đại hấp thụ ở 276 nm. A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại phải từ 66 đến 75.

C. Trong phản thử “Tập chất liên quan”, vết chính của dung dịch thử (2) phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết của dung dịch đối chiếu.

D. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 50 ml dung dịch natri tetraborat 2 %, thêm 1 ml dung dịch 4-amino-phenazon 3 %, 10 ml dung dịch kali fericyanid 2 % và 10 ml cloroform (TT), lắc và để yên cho tách lớp. Lớp cloroform phải có màu đỏ cam.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu mẫu VN₅ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực

Từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).

Xác định trên dung dịch S.

Tập chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - propan-2-ol - nước - amoniac 13,5 M (50 : 30 : 16 : 4).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg salbutamol chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 18 cm, để bản mỏng khô ngoài không khí đến khi hết mùi dung môi. Đặt bản mỏng vài phút vào bình bão hòa diethylamin và phun dung dịch acid sulfanilic đã được diazo hóa (TT).

Trên sắc ký đồ, bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử (1) không được có màu đậm hơn vết của dung dịch đối chiếu.

Bor

Không được quá 50 phần triệu.

Dung dịch thử: Thêm 5 ml dung dịch chứa 1,3 % natri carbonat khan và 1,7 % kali carbonat vào 50 mg chế phẩm. Bốc hơi trên cách thủy đến khô và sấy khô ở 120 °C. Nung cẩn đến khi chất hữu cơ bị phá hủy hoàn toàn, để nguội và thêm 0,5 ml nước, 3,0 ml dung dịch curcumin 0,125 % trong acid acetic bằng mới pha. Đun nóng để hòa tan hoàn toàn, để nguội và thêm 3,0 ml hỗn hợp được điều chế bằng cách thêm từ từ và khuấy đều 5 ml acid sulfuric đậm đặc (TT) vào 5 ml acid acetic bằng (TT). Trộn đều và để yên 30 phút, pha loãng thành 100,0 ml bằng ethanol 96 % (TT), lọc và dùng dịch lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,572 g acid boric (TT) trong 1000,0 ml nước. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng nước. Lấy 2,5 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml dung dịch chứa 1,3 % natri carbonat khan (TT) và 1,7 % kali carbonat (TT) và tiến hành tiếp tục như dung dịch thử.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu ở bước sóng cực đại khoảng 555 nm. Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 30 ml acid acetic khan (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 23,93 mg C₁₃H₂₁NO₃.

Bảo quản

Đựng trong đồ đựng kín và tránh ánh sáng.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN SALBUTAMOL**Tabellae Salbutamoli**

Là viên nén chứa salbutamol sulfat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng salbutamol, $C_{13}H_{21}NO_3$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng, không mùi.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 2,5 mg salbutamol với 50 ml *dung dịch natri tetraborat* 2 %. Thêm 1 ml *dung dịch aminopyrazolon* 3 %, 10 ml *dung dịch kali fericyanid* 2 % và 10 ml *cloroform* (TT). Lắc đều và để phân lớp, lớp cloroform có màu đỏ cam.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 4.4).

Tiến hành như phần thử Tạp chất liên quan, chấm 2 μ l mỗi dung dịch sau:

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với 10 mg salbutamol, thêm 10 ml *methanol* 80 % (tt/tt), khuấy kỹ, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 12 mg salbutamol sulfat chuẩn trong 10 ml *methanol* 80 % (tt/tt).

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về màu sắc, kích thước và giá trị R_f .

C. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 4 mg salbutamol với 10 ml *nước*, lọc. Dịch lọc phải cho phản ứng của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 4.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - propan-2-ol - nước - amoniac* 13,5 M (50 : 30 : 16 : 4)

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 10 mg salbutamol với 1 ml *nước* trong 15 phút. Ly tâm gạn lấy phần dịch trong.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch salbutamol sulfat chuẩn nồng độ 0,0060 % trong *nước*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 20 μ l mỗi dung dịch lên bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, đặt bản mỏng trong bình bão hòa hơi *diethylamin* (TT) trong vài phút. Lấy ra, phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfanilic diazo hóa* (TT). Bất kỳ vết nào ngoài vết chính có trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải không được đậm hơn vết thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, bỏ qua vết màu hồng ở gần điểm xuất phát.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động và điều kiện sắc ký như phần Định lượng.

Dung dịch thử: Cho một viên thuốc vào một bình định mức dung tích 25 ml, thêm khoảng 20 ml pha động, lắc đến khi viên rã hoàn toàn, thêm pha động đến định mức, lắc đều, lọc.

Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch chuẩn salbutamol sulfat trong pha động có nồng độ tương đương với nồng độ của dung dịch thử.

Định lượng

Viên có hàm lượng salbutamol 2 mg hoặc ít hơn: Lấy giá trị trung bình của kết quả 10 lần thử nghiệm trong xác định độ đồng đều hàm lượng.

Viên có hàm lượng trên 2 mg thì tiến hành như sau:

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Dung dịch natri dihydrophosphat pH 3,1 - methanol* (85 : 15).

Dung dịch natri dihydrophosphat pH 3,1: Hòa tan 11,04 g *natri dihydrophosphat* (TT) trong 1000 ml *nước*, chỉnh đến pH 3,1 bằng *acid phosphoric* (TT).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa salbutamol sulfat chuẩn trong pha động có nồng độ 96 μ g/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 4,8 mg salbutamol sulfat vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 40 ml pha động, lắc để hòa tan và thêm pha động đến định mức. Lắc đều, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 276 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết, tính trên pic salbutamol sulfat, phải lớn hơn 3000.

Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng salbutamol, $C_{13}H_{21}NO_3$, có trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{13}H_{21}NO_3$ trong salbutamol sulfat chuẩn. Hệ số chuyển đổi từ salbutamol sulfat sang salbutamol là 0,83.

Bảo quản

Đóng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

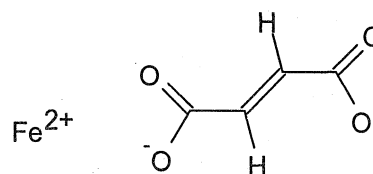
Thuốc kích thích thụ thể β_2 giao cảm.

Hàm lượng thường dùng

2 mg, 4 mg, 8 mg.

SẮT FUMARAT

Ferrosi fumaras



$C_4H_2FeO_4$

P.t.l: 169,9

Sắt fumarat là sắt (II) (E)-butendioat, phải chứa từ 93,0 % đến 101,0 % $C_4H_2FeO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột mịn, màu da cam đỏ hay nâu đỏ. Khó tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Acid formic khan - methylen clorid - butanol - heptan (12 : 16 : 32 : 44).

Dung dịch thử: Thêm 25 ml hỗn hợp đồng thể tích acid hydrocloric (TT) và nước vào 1,0 g chế phẩm, đun nóng trên cách thủy 15 phút. Để nguội và lọc. Dùng dịch lọc để thử phép thử C. Rửa cân bằng 50 ml hỗn hợp dung dịch acid hydrocloric 2 M - nước (1 : 9). Sấy khô cân ở 100 °C đến 105 °C. Hòa tan 20 mg cân trong acetone (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg acid fumaric chuẩn trong acetone (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 5 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký trong bình không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 10 cm. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 15 phút và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải giống vị trí và kích thước với vết chính của dung dịch đối chiếu.

B. Trộn 0,5 g chế phẩm với 1 g resorcin (TT). Cho 0,5 g hỗn hợp trên vào chén nung, thêm 0,15 ml acid sulfuric (TT) và đun nóng nhẹ tạo thành khối dẻo màu đỏ thẫm. Cho cẩn thận khối dẻo trên vào 100 ml nước, màu vàng da cam xuất hiện và dung dịch không có huỳnh quang.

C. Dịch lọc ở phép thử A cho phản ứng của ion sắt (II) (Phụ lục 8.1).

Sulfat

Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.4.14).

Đun nóng 0,15 g chế phẩm với 8 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT) và 20 ml nước. Làm lạnh trong nước đá, lọc và pha loãng dịch lọc thành 30 ml bằng nước. Dùng 15 ml dung dịch này để thử.

Arsen

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Trộn 1,0 g chế phẩm với 15 ml nước và 15 ml acid sulfuric (TT). Làm nóng để kết tủa hoàn toàn acid fumaric. Để nguội và thêm 30 ml nước, lọc, rửa tủa bằng nước. Tập trung dịch lọc và nước rửa, thêm nước để được 100 ml. Lấy 20 ml dung dịch thu được để thử theo phương pháp A.

Ion sắt (III)

Không được quá 2,0 %.

Trong bình nón nút mài, hòa tan 3,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml acid hydrocloric (TT) và 100 ml nước bằng cách đun nhanh tới sôi. Để sôi 15 giây. Làm nguội nhanh, thêm 3 g kali iodid (TT), đậy bình và để chỗ tối 15 phút. Thêm 2 ml dung dịch hồ tinh bột (TT) và chuẩn độ iod giải phóng bằng dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (CĐ). Song song làm mẫu trắng. Hiệu số giữa thể tích dung dịch chuẩn độ tiêu thụ bởi mẫu thử và mẫu trắng là thể tích dung dịch chuẩn độ bị iod giải phóng bởi ion sắt (III) tiêu thụ.

1 ml dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (CĐ) tương đương với 5,585 mg ion sắt (III).

Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml acid hydrocloric không có chì (TT) và 80 ml nước, đun nóng nhẹ nếu cần. Để nguội, lọc và pha loãng thành 100 ml bằng nước.

Cadmi

Không được quá 10 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch S để thử.

Dung dịch chuẩn: Các dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng từ dung dịch cadmi mẫu 0,1 % Cd bằng dung dịch acid hydrocloric không có chì 10 % (tt/tt).

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 228,8 nm, dùng đèn cathod rỗng cadmi làm nguồn phát xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Crom

Không được quá 200 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch S để thử.

Dung dịch chuẩn: Các dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng từ dung dịch crom mẫu 0,1 % bằng dung dịch acid hydrocloric không có chì 10 % (tt/tt).

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 357,9 nm, dùng đèn cathod rỗng crom làm nguồn phát xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Chì

Không được quá 20 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch S để thử.

Dung dịch chuẩn: Các dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng từ dung dịch chì mẫu 10 phần triệu bằng dung dịch acid hydrocloric không có chì 10 % (tt/tt).

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 283,3 nm, dùng đèn cathod rỗng chì làm nguồn phát xạ và ngọn lửa không khí - acetylen

Thủy ngân

Không được quá 1 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch S để thử.

Dung dịch chuẩn: Các dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng từ *dung dịch thủy ngân mẫu 10 phần triệu* bằng *dung dịch acid hydrochloric không có chì 25 % (tt/tt)*.

Theo sự hướng dẫn của nhà sản xuất thiết bị, cho 5 ml dung dịch S hay 5 ml các dung dịch chuẩn vào bình phản ứng của bộ phận hóa hơi lạnh, thêm 10 ml nước và 1 ml *dung dịch thiếc (II) clorid (TT)*.

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 253,7 nm, dùng đèn cathod rỗng thủy ngân làm nguồn phát xạ.

Nickel

Không được quá 200 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch S để thử.

Dung dịch chuẩn: Các dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng từ *dung dịch nickel mẫu 10 phần triệu* bằng *dung dịch acid hydrochloric không có chì 10% (tt/tt)*.

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 232 nm, dùng đèn cathod rỗng nickel làm nguồn phát xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Kẽm

Không được quá 500 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch pha loãng 10 lần của dung dịch S để thử.

Dung dịch chuẩn: Các dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng từ *dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu* bằng *dung dịch acid hydrochloric không có chì 1 % (tt/tt)*.

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 213,9 nm, dùng đèn cathod rỗng kẽm làm nguồn phát xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 7,5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ. Để nguội và thêm 25 ml nước, 0,1 ml *dung dịch feroin sulfat (TT)*. Chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* đến khi màu chuyển từ da cam sang lục lam nhạt.

1 ml *dung dịch ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 16,99 mg $C_4H_2FeO_4$.

Bảo quản

Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

VIÊN NÉN SẮT FUMARAT VÀ ACID FOLIC

Tabellae Ferrosi fumaratis et Acidi folici

Là viên nén bao phim chứa sắt fumarat và acid folic.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén", mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng sắt fumarat, $C_4H_2FeO_4$ từ 90,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$ từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Chú ý: Tiến hành các thử nghiệm trong điều kiện tránh ánh sáng.

Tính chất

Viên bao phim, màu đồng nhất.

Định tính

A. Trong phần định lượng acid folic, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng thời gian lưu với pic acid folic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Cân một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,8 g sắt fumarat, thêm 25 ml hỗn hợp đồng thể tích *acid hydrochloric (TT)* và nước, đun trên cách thủy 15 phút, để nguội và lọc. Giữ cặn cho phép thử C. Dịch lọc phải cho các phản ứng của sắt (II) (Phụ lục 8.1).

C. Rửa cặn thu được trong phép thử B bằng *dung dịch acid hydrochloric 0,2 M (TT)*, mỗi lần với 5 ml, cho đến khi dịch lọc không còn màu vàng và sấy khô ở 105 °C. Lắc kỹ khoảng 0,1 g cặn thu được với 2 ml *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)* và thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch kali permanganat 5 % (TT)*. Màu nâu sẽ xuất hiện ngay lập tức.

Sắt (III)

Không được quá 5,0 % trong sắt fumarat.

Cân chính xác một lượng bột viên chứa khoảng 1,5 g sắt fumarat vào bình nón nút mài, thêm hỗn hợp gồm 100 ml nước và 10 ml *acid hydrochloric (TT)*, lắc kỹ và đun nhanh tới sôi. Để sôi 15 giây, làm nguội nhanh, thêm 3 g *kali iodid (TT)*, đập nắp, để yên trong chỗ tối 15 phút và chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.

Song song tiến hành một mẫu trắng trong cùng điều kiện.

Hiệu số giữa hai lần chuẩn độ không được quá 13,4 ml.

Độ đồng đều hàm lượng acid folic

Chế phẩm có hàm lượng acid folic ít hơn 2 mg phải đáp ứng yêu cầu “Độ đồng đều hàm lượng” (Phụ lục 11.2).

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp gồm 135 ml *methanol* (TT) và 800 ml dung dịch chứa *natri perclorat* 0,938 % và *kali dihydrophosphat* 0,075 %, điều chỉnh pH đến 7,2 bằng *dung dịch kali hydroxyd* 0,1 M và pha loãng bằng *nước* thành 1000 ml, lắc đều.

Dung môi hòa tan: Hỗn hợp gồm 800 thể tích *dung dịch dikali hydrophosphat* 0,57 % và 135 thể tích *methanol* (TT).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch acid folic chuẩn 0,0007 % trong dung môi hòa tan.

Dung dịch thử: Cho một viên thuốc vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml dung môi hòa tan, lắc siêu âm 5 phút, lắc cơ học thêm 15 phút nữa, thêm dung môi hòa tan đến định mức, lắc đều, lọc. Pha loãng dịch lọc nếu cần với dung môi hòa tan để được dung dịch có nồng độ acid folic tương đương với nồng độ của dung dịch chuẩn.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 277 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic acid folic trên sắc ký đồ thu được giữa các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, trong mỗi viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn và dựa vào hàm lượng $C_{19}H_{19}N_7O_6$ của acid folic chuẩn.

Định lượng

Cân 20 viên (đã loại bỏ vỏ bao), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn.

Định lượng sắt fumarat

Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,3 g sắt fumarat, thêm 7,5 ml *dung dịch acid sulfuric* 1 M (TT) vừa đun nóng nhẹ vừa lắc để phân tán và hòa tan. Để nguội, thêm 25 ml *nước* và chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch amoni ceri sulfat* 0,1 M (CĐ), dùng *dung dịch feroiin sulfat* (TT) làm chỉ thị. 1 ml dung dịch *amoni ceri sulfat* 0,1 M (CĐ) tương đương với 16,99 mg $C_4H_2FeO_4$.

Định lượng acid folic

Đối với chế phẩm có hàm lượng acid folic ít hơn 2 mg, lấy giá trị trung bình của 10 viên trong phép thử Độ đồng đều hàm lượng acid folic.

Đối với chế phẩm có hàm lượng acid folic bằng 2 mg hoặc lớn hơn, tiến hành định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung môi hòa tan, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký và cách tiến hành: Như mô tả trong mục Độ đồng đều hàm lượng acid folic.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương đương với 0,35 mg acid folic vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml dung môi hòa tan, lắc siêu âm 5 phút, lắc cơ học thêm 15 phút nữa, thêm dung môi hòa tan đến định mức, lắc đều và lọc.

Tính hàm lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, trong mỗi viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{19}H_{19}N_7O_6$ của acid folic chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Điều trị thiếu máu.

Hàm lượng thường dùng

200 mg sắt fumarat, 1 mg acid folic.

SẮT OXYD**Ferri oxydum**

Fe_2O_3

P.t.l: 159,7.

Sắt oxyd phải chứa từ 97,0 % đến 100,5 % Fe_2O_3 , tính theo chế phẩm đã nung.

Tính chất

Bột có thể có màu đỏ, vàng, đen hay gam màu khác do trộn lẫn ba màu cơ bản trên. Không tan trong nước và dung môi hữu cơ, tan trong acid hydrocloric đậm đặc khi đun nóng.

Định tính

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 50 ml *acid hydrocloric* (TT) và pha loãng thành 200 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được cho phản ứng định tính của ion sắt (III) (Phụ lục 8.1).

Chất tan trong nước

Không được quá 1,0 %.

Cân 2,0 g chế phẩm, thêm 100 ml *nước* và để trên cách thủy sôi 2 giờ. Lọc và rửa phễu lọc bằng *nước*. Bốc hơi dịch lọc và *nước* rửa đến khô. Sấy cân ở 105 °C trong 1 giờ. Cân thu được không được quá 20 mg.

Chất không tan trong acid

Không được quá 0,1 %.

Cân 2,0 g chế phẩm, thêm 25 ml *acid hydrochloric* (TT) và đun sôi 20 phút. Thêm 100 ml *nước nóng* và lọc qua phễu xốp đã cân bì trước, rửa phễu bằng *nước nóng* cho đến khi nước rửa không còn cho phản ứng của ion clorid. Sấy phễu ở 105 °C trong 1 giờ. Cân thu được không được quá 2 mg.

Chất màu hữu cơ và phẩm màu đỏ

Lấy 3 cốc có mỏ, cân vào mỗi cốc 1,0 g chế phẩm. Cho riêng biệt vào mỗi cốc 25 ml *cloronaphthalen* (TT), 25 ml *ethanol* 96 % (TT), 25 ml *cloroform* (TT). Đun hai cốc chứa ethanol 96 % và cloroform đến sôi. Đun nóng cốc còn lại trên cách thủy sôi 15 phút, thỉnh thoảng lắc. Lọc các hỗn hợp qua giấy lọc chịu được dung môi. Nếu dịch lọc không trong thì ly tâm 15 phút. Ghi phổ (Phụ lục 4.1) của các dịch lọc trong khoảng bước sóng từ 350 nm đến 750 nm, trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là các dung môi tương ứng. Trong toàn phổ không được có pic nào có mật độ quang lớn hơn +0,001.

Arsen

Không được quá 3 phần triệu (Phụ lục 9.4.2). Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong vài ml *acid hydrochloric* (TT) bằng cách đun nóng rồi pha loãng thành 15,0 ml bằng *acid hydrochloric* (TT). Lấy 10,0 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp A.

Chì

Không được quá 10 phần triệu. Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Cân 2,5 g chế phẩm, thêm 35 ml *dung dịch acid hydrochloric* 0,1 N (TT) và lắc 1 giờ. Lọc, tập trung dịch lọc vào bình định mức 50 ml, thêm *dung dịch acid hydrochloric* 0,1 N (TT) đến vạch, lắc đều.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5,0 ml *dung dịch chì mẫu* 1000 phần triệu vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrochloric* 1 N (TT) và *nước* đến vạch, lắc đều. Lấy 1,0 ml *dung dịch* thu được vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrochloric* 1 N (TT) và *nước* đến vạch, lắc đều. Dung dịch này có nồng độ chì 0,5 µg/ml.

Đo độ hấp thụ của các dung dịch trên ở 217,0 nm, sử dụng đèn chì cathod rỗng làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen. Độ hấp thụ đo được của dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ đo được của dung dịch đối chiếu.

Thủy ngân

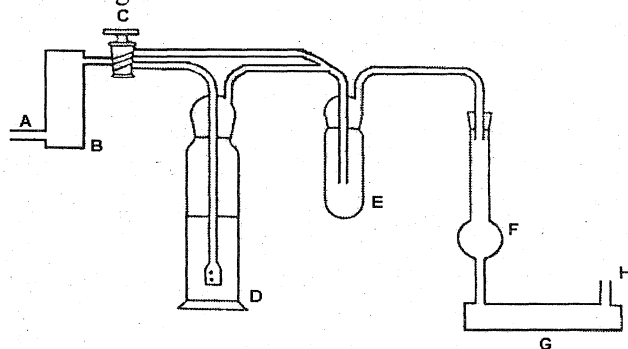
Không được quá 3 phần triệu. Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử.

Phương pháp

Thiết bị phát hiện thủy ngân: Dùng một máy quang phổ hấp thụ nguyên tử thích hợp có khả năng đo bức

xạ do hơi thủy ngân hấp thụ tại vạch cực đại 253,6 nm của thủy ngân (*Ghi chú:* Tráng tất cả dụng cụ thủy tinh sử dụng bằng *dung dịch acid nitric* 10 %, sau đó tráng kỹ lại bằng *nước* trước khi sử dụng).

Thiết bị tạo hơi thủy ngân: Thiết bị gồm một lưu lượng kế điều chỉnh tốc độ dòng, có khả năng điều chỉnh tốc độ dòng từ 500 ml/min đến 1000 ml/min, nối qua một van ba chiều có khóa bằng teflon vào một bình tạo hơi thủy ngân (bình sục khí 250 ml), qua một bể, một ống làm khô chứa magnesi perchlorat, một công đo dài 10 cm, đường kính 25 mm, công được nối với đường thải khí đưa vào hút.



Các phần nối được làm bằng thủy tinh hoặc polyvinyl clorid

Hình 1: Thiết bị tạo hơi thủy ngân

- | | |
|--------------------------------|---|
| A: Không khí hoặc khí nitrogen | E: Bể thủy ngân |
| B: Lưu lượng kế | F: Ống làm khô chứa Mg(ClO ₄) |
| C: Van ba chiều | G: Công thạch anh, dài 10 cm |
| D: Bình tạo hơi thủy ngân | H: Đường dẫn khí thải |

Thuốc thử:

Dung dịch kali permanganat 5 %: Hòa tan 5 g *kali permanganat* (TT) trong 100 ml *nước*.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid: Hòa tan 10 g *hydroxylamin hydroclorid* (TT) trong *nước*.

Dung dịch thiếc (II) clorid: Hòa tan 10 g SnCl₂·2H₂O trong 20 ml *acid hydrochloric* (TT), thêm 80 ml *nước*. Chuẩn bị dung dịch này hàng tuần.

Dung dịch chuẩn gốc thủy ngân 1000 µg/ml.

Dung dịch chuẩn: Pha loãng dung dịch chuẩn gốc thủy ngân 1000 µg/ml bằng *nước* để được dung dịch chuẩn có nồng độ thủy ngân 1 µg/ml. Hút chính xác 2,0 ml dung dịch chuẩn thủy ngân vào bình nón 100 ml, thêm 35 ml *nước*, 3 ml *acid sulfuric* (TT) và 1 ml *dung dịch kali permanganat* 5 %. Đậy bình bằng mặt kính đồng hồ, đun sôi vài giây, để nguội.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,67 g chế phẩm vào bình nón, thêm 35 ml *dung dịch acid hydrochloric* 0,5 N, đun sôi. Để nguội, thêm 2 giọt *dung dịch phenolphthalein* (TT) và, nếu cần, trung hòa dung dịch bằng cách thêm từ từ, vừa thêm vừa khuấy, *dung dịch natri hydroxyd* 1 N (TT) hoặc *dung dịch acid sulfuric* 1 N (TT). Thêm 3 ml *acid sulfuric* và 1 ml *dung dịch kali permanganat* 5 %. Đậy bình bằng mặt kính đồng hồ, đun sôi vài giây, để nguội.

Tiến hành:

Chuẩn bị thiết bị tạo hơi thủy ngân như sơ đồ, bình tạo hơi thủy ngân và bể được để trống, van ba chiều được để ở vị trí bypass (không khí đi qua bình tạo hơi thủy ngân). Nồi thiết bị tạo hơi thủy ngân với công đo, điều chỉnh dòng không khí hay nitơ sao cho trong quá trình đo tiếp theo thu được độ hấp thụ cao nhất và lặp lại mà không gây tạo bọt quá nhiều với dung dịch thử. Đợi đến khi thu được đường nền phẳng ở bước sóng 253,6 nm theo hướng dẫn sử dụng thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử.

Xử lý dung dịch chuẩn và dung dịch thử tương tự nhau như sau: Thêm từng giọt dung dịch hydroxylamin hydroclorid vào để loại kali permanganat dư cho tới khi dung dịch thu được trở thành không màu. Lập tức chuyển toàn bộ dung dịch vào bình tạo hơi thủy ngân, tráng bình chứa bằng nước, chuyển vào bình tạo hơi thủy ngân, rồi pha loãng dung dịch trong bình tạo hơi thủy ngân bằng nước đến 100 ml. Thêm 2 ml *dung dịch thiếc (II) clorid*, lập tức nối bình tạo hơi thủy ngân vào thiết bị tạo hơi thủy ngân. Xoay van ba chiều từ vị trí bypass sang vị trí hóa hơi, tiếp tục quá trình hóa hơi cho tới khi độ hấp thụ tăng đến đỉnh rồi trở lại đường nền. Sau mỗi lần đo tháo bình tạo hơi khỏi thiết bị, rửa sạch bằng nước. Độ hấp thụ của dung dịch thử không được cao hơn độ hấp thụ của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 1,500 g chế phẩm, thêm 25 ml *acid hydrocloric (TT)* và đun nóng trên cách thủy tới khi hòa tan hoàn toàn. Thêm 10 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 10 tt (TT)* và bốc hơi trên cách thủy tới gần cạn để đuổi hết hydrogen peroxyd. Thêm 5 ml *acid hydrocloric (TT)* và đun nóng để hòa tan cặn, thêm 25 ml nước, lọc vào bình định mức 250 ml, rửa phễu bằng nước và thêm nước tới vạch. Lấy 50 ml dung dịch thu được vào bình nón nút mài, thêm 3 g *kali iodid (TT)* và 5 ml *acid hydrocloric (TT)*, đậy nắp bình, để yên 15 phút. Thêm 50 ml nước và chuẩn độ lượng iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Song song làm mẫu trắng.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 7,985 mg Fe_2O_3 .

Để tính hàm lượng Fe_2O_3 theo chế phẩm đã nung, nung 2,0 g chế phẩm ở nhiệt độ $800^\circ\text{C} \pm 25^\circ\text{C}$ đến khối lượng không đổi.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

SẮT (II) SULFAT**Ferrosi sulfas**

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

P.t.l: 278,0

Sắt (II) sulfat phải chứa từ 98,0 % đến 105,0 % $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Tính chất

Bột kết tinh màu xanh lục nhạt hay tinh thể xanh lục lam, lên hoa trong không khí khô và bị oxy hóa trong không khí ẩm thành màu nâu.

Đễ tan trong nước, rất tan trong nước sôi, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Chế phẩm cho phản ứng của ion sắt (II) và ion sulfat (Phụ lục 8.1) và phải đạt giới hạn yêu cầu trong phần định lượng.

Độ trong của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT), thêm 0,5 ml dung dịch *acid sulfuric 10 % (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng nước.

Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2).

pH

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 10 ml bằng nước. pH của dung dịch này phải từ 3,0 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).

Clorid

Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.5).

Pha loãng 3,3 ml dung dịch S thành 10 ml bằng nước và thêm 5 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* rồi tiến hành thử. Chuẩn bị mẫu đối chiếu gồm 10 ml *dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu (TT)* và 5 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)*. Dùng 0,15 ml *dung dịch bạc nitrat 1,7 % (TT)* trong phép thử này.

Ion sắt (III)

Không được quá 0,5 %.

Trong bình nón nút mài, hòa tan 5,00 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *acid hydrocloric (TT)* và 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT). Thêm 3 g *kali iodid (TT)*, đậy nắp bình và để chỗ tối 5 phút. Chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* với chỉ thị là 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* cho vào cuối chuẩn độ. Song song làm mẫu trắng. Lượng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tiêu thụ không được quá 4,5 ml.

Kim loại nặng

Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)*, thêm 2 ml nước oxy già đậm đặc (TT) và bốc hơi đến khi còn 5 ml. Để nguội, pha

loãng thành 20 ml bằng *dung dịch acid hydrochloric 25 % (TT)*. Chuyển vào bình gạn và lắc 3 lần, mỗi lần với 20 ml *methyl isobutyl ceton* đã bão hòa *acid hydrochloric* (được chuẩn bị bằng cách lắc 100 ml *methyl isobutyl ceton (TT)* mới cất với 1 ml *dung dịch acid hydrochloric 25 % (TT)*). Để tách lớp, lấy lớp nước và bốc hơi đến khi thể tích còn một nửa, để nguội và pha loãng với *nước* thành 25 ml (*dung dịch A*). Trung hòa 10 ml *dung dịch A* với giấy quỳ bằng *dung dịch amoniac 10 % (TT)* và pha loãng với *nước* thành 20 ml. Lấy 12 ml *dung dịch* thu được thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mangan

Không được quá 0,1 %.

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 40 ml *nước*, thêm 10 ml *acid nitric (TT)* và đun đến khi không còn khói đỏ bay ra. Thêm 0,5 g *amoni persulfat (TT)* và đun sôi 10 phút. Làm mất màu hồng bằng cách thêm từng giọt *dung dịch natri sulfat 5 % (TT)* và đun đến khi không còn mùi của sulfur dioxyd. Thêm 10 ml *nước*, 5 ml *acid phosphoric (TT)* và 0,5 g *natri periodat (TT)*, đun sôi 1 phút và để nguội. *Dung dịch* thu được không được có màu đậm hơn màu của *dung dịch đối chiếu* được chuẩn bị đồng thời và giống như trên với 1,0 ml *dung dịch kali permanganat 0,02 M (CĐ)*.

Kẽm

Không được quá 0,05 %.

Lấy 5 ml *dung dịch A* ở phần thử kim loại nặng, thêm 1 ml *dung dịch kali ferocyanid 5 % (TT)* và pha loãng với *nước* thành 13 ml. Sau 5 phút, *dung dịch* thu được không được đục hơn *dung dịch đối chiếu* được chuẩn bị đồng thời như sau:

Trộn đều 10 ml *dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu* với 2 ml *dung dịch acid hydrochloric 25 % (TT)* và 1 ml *dung dịch kali ferocyanid 5 % (TT)*.

Định lượng

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 25 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 25 ml *nước* mới đun sôi để nguội. Chuẩn độ ngay bằng *dung dịch amoni ceri sulfat 0,1N (CĐ)* với chỉ thị là 0,1 ml *dung dịch feroiin sulfat (TT)*.

1 ml *dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 27,80 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Chế phẩm

Viên bao.

VIÊN NÉN SẮT (II) SULFAT

Tabellae Ferrosi sulfatis

Là viên nén bao đường chứa sắt (II) sulfat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” mục “Viên bao” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng sắt (II) sulfat, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao phải nhẵn bóng, không nứt cạnh, không dính tay, đồng đều về màu sắc.

Định tính

Lấy một lượng bột viên tương đương khoảng 0,25 g sắt (II) sulfat, thêm 20 ml *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)*, lắc kỹ, lọc.

Dịch lọc phải cho các phản ứng của sắt (II) và sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4).

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Xác định lượng sắt (II) sulfat, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, bằng phương pháp quang phổ hấp phụ nguyên tử (Phụ lục 4.4), đo ở bước sóng 248,3 nm.

Dung dịch đối chiếu: *Dung dịch* sắt chuẩn pha loãng với *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)* đến nồng độ thích hợp.

Dung dịch thử: Lấy một phần *dung dịch* môi trường sau khi hòa tan, lọc và pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)* đến nồng độ thích hợp.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng sắt (II) sulfat, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Cân 20 viên đã loại bỏ lớp bao, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn.

Cân chính xác một lượng bột viên tương đương khoảng 0,5 g sắt (II) sulfat cho vào bình nón 250 ml, thêm 25 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 50 ml *nước* mới đun sôi để nguội, lắc kỹ để hòa tan. Chuẩn độ ngay bằng *dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* với *dung dịch feroiin sulfat (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 27,80 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Bổ sung sắt, điều trị thiếu máu.

Hàm lượng thường dùng

200 mg.

SẮT (II) SULFAT KHÔ***Ferrosi sulfas siccum***

Sắt (II) sulfat khô là sắt (II) sulfat đã bị loại một phần nước kết tinh do sấy ở 40 °C, phải chứa từ 86,0 % đến 90,0 % FeSO_4 .

Tính chất

Bột trắng xám.

Hòa tan chậm nhưng gần như hoàn toàn trong nước mới đun sôi để nguội.

Định tính

Chế phẩm cho phản ứng của ion sắt (II) và ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Arsen

Không được quá 3 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml nước và 15 ml acid hydrocloric đã thiếc hóa (TT). Cắt lấy 20 ml dịch cắt, thêm 0,15 ml nước brom (TT). Đuổi brom thừa bằng 0,15 ml dung dịch thiếc (II) clorid AsT (TT) và pha loãng với nước thành 75 ml. Lấy 25 ml dung dịch thu được để thử theo phương pháp A.

Đồng

Không được quá 50 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).

Đo ở bước sóng 324,7 nm.

Dung dịch thử: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong dung dịch acid nitric 5 % (tt/tt) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Các dung dịch chuẩn: Được pha loãng từ dung dịch đồng mẫu 0,1 % bằng dung dịch acid nitric 5 % (tt/tt).

Ion sắt (III), kim loại nặng, mangan, kẽm

Phải tuân theo các yêu cầu và phương pháp thử trong chuyên luận "Sắt (II) sulfat".

Sulfat bazo

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 7,5 ml nước mới đun sôi để nguội và 0,5 ml dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT). Dung dịch thu được chỉ được đục nhẹ.

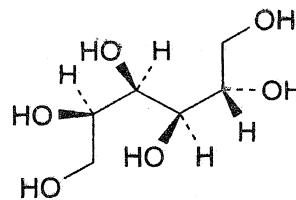
Định lượng

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 30 ml nước và 20 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ) với chỉ thị là dung dịch feroin sulfat (TT).

1 ml dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ) tương đương với 15,19 mg FeSO_4 .

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

SORBITOL***Sorbitolum***

$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$

P.t.l: 182,2

Sorbitol là D-glucitol (D-sorbitol), phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng, hay gần như trắng, đa hình.

Rất dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml anhydrid acetic (TT) và 0,5 ml pyridin (TT) bằng cách làm nóng, để yên 10 phút. Đổ hỗn hợp trên vào 25 ml nước, để yên trong nước đá 2 giờ và lọc. Lấy tủa, kết tinh lại trong một lượng nhỏ ethanol 96 % (TT) và sấy khô trong chân không, điểm chảy của tủa thu được phải ở khoảng 98 °C đến 104 °C (Phụ lục 6.7).

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Propanol - ethyl acetat - nước (70 : 20 : 10).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg sorbitol chuẩn trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg manitol chuẩn, 25 mg sorbitol chuẩn trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 17 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và phun dung dịch acid 4-aminobenzoic (TT). Để khô bản mỏng trong luồng không khí lạnh đến khi aceton bay hết. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 15 phút. Để nguội và phun dung dịch natri periodat 0,2 %. Để khô bản mỏng trong luồng không khí lạnh. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 15 phút.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí, màu sắc và kích thước tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 2 vết tách rõ ràng riêng biệt.

C. Hòa tan 5,00 g chế phẩm và 6,4 g dinatri tetraborat (TT) trong 40 ml nước, để yên 1 giờ, thỉnh thoảng lắc, và pha loãng thành 50,0 ml bằng nước. Lọc nếu cần.

Góc quay cực riêng từ $+4,0^\circ$ đến $+7,0^\circ$ tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Độ dẫn điện

Hòa tan 20,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Đo độ dẫn điện của dung dịch thu được trong khi khuấy từ nhẹ không quá $20 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ (Phụ lục 6.10).

Đường khử

Không được quá 0,2 % tính theo glucose.

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 6 ml nước bằng cách đun nóng nhẹ. Để nguội, thêm 20 ml dung dịch đồng-citrat (TT) và vài viên bi thủy tinh. Đun nóng sao cho sau 4 phút thì sôi và đun sôi tiếp 3 phút. Làm nguội nhanh và thêm 100 ml dung dịch acid acetic 2,4 % (tt/tt), 20,0 ml dung dịch iốt 0,05 N (CĐ). Vừa lắc vừa thêm 25 ml hỗn hợp acid hydrocloric - nước (6 : 94). Khi tủa tan hết, chuẩn độ iốt thừa bằng dung dịch natri thiosulfat 0,05 N (CĐ) dùng 1 ml dung dịch hồ tinh bột (TT) làm chỉ thị, cho vào cuối phép chuẩn độ. Thể tích dung dịch natri thiosulfat 0,05 N (CĐ) tiêu thụ không được ít hơn 12,8 ml.

Tạp chất liên quan

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng như mô tả ở phần định lượng.

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic sorbitol phải ít nhất là 50 % của thang đo.

Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3) và tiến hành chạy sắc ký với thời gian bằng 3 lần thời gian lưu của sorbitol. Trong sắc ký đồ của dung dịch thử: diện tích của bất kỳ pic phụ nào, ngoài pic chính, không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2 %) và tổng diện tích của tất cả các pic phụ này không được quá 1,5 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (3 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).

Chì

Không được quá 0,5 phần triệu (Phụ lục 9.4.4).

Nickel

Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.10).

Hòa tan chế phẩm trong 150,0 ml hỗn hợp dung môi quy định.

Nước

Không được quá 1,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,00 g chế phẩm.

Độ nhiễm khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm phải đạt yêu cầu về độ nhiễm khuẩn: số lượng vi khuẩn hiếu khí sống lại được không được quá 100 vi khuẩn, không được quá 100 nấm mốc và men cho mỗi gam chế phẩm, xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6). Chế phẩm không được có *Escherichia coli* và *Salmonella* (Phụ lục 13.6).

Nội độc tố vi khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp khác thích hợp để loại nội độc tố vi khuẩn thì phải chứa ít hơn 4 EU/g đối với thuốc tiêm có nồng độ sorbitol thấp hơn 100 g/l và chứa ít hơn 2,5 EU/g đối với thuốc tiêm có nồng độ sorbitol bằng hoặc cao hơn 100 g/l (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước đã loại bọt khí.

Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 20 ml nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,50 g sorbitol chuẩn trong 2 ml nước và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 100,0 ml bằng nước.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 0,5 g sorbitol (TT) và 0,5 g manitol (TT) trong 5 ml nước và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,3 m $\times$ 7,8 mm) được nhồi nhựa trao đổi cation mạnh (dạng calci) (TT) (9 μm) và giữ ở nhiệt độ $85^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.

Detector khúc xạ kế được giữ ở nhiệt độ không đổi.

Thể tích tiêm: 20 μl

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải.

Sắc ký đồ được ghi trong điều kiện đã nêu trên thì thời gian lưu của sorbitol khoảng 27 phút và thời gian lưu tương đối so với sorbitol là: maltitol khoảng 0,6, manitol khoảng 0,8 và iditol khoảng 1,1. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic của sorbitol và pic manitol ít nhất là 2 trong sắc ký đồ của dung dịch phân giải.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tiến hành chạy sắc ký với thời gian bằng 3 lần thời gian lưu của sorbitol.

Tính hàm lượng % của D-sorbitol từ diện tích các pic và hàm lượng của sorbitol chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Nhãn phải ghi nồng độ tối đa của nội độc tố vi khuẩn và có thích hợp để pha thuốc tiêm không.

THUỐC BỘT SORBITOL***Pulveres Sorbitoli***

Là thuốc bột chứa sorbitol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc bột” (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng sorbitol, $C_6H_{14}O_6$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột trắng, vị ngọt.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Propanol - ethyl acetat - nước (70 : 20 : 10)

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 20,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg sorbitol chuẩn trong nước và pha loãng thành 20,0 ml bằng cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 17 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và phun *dung dịch acid 4-amino-benzoic* (TT). Để khô bản mỏng trong luồng khí lạnh đến khi aceton bay hết. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 15 phút. Để nguội và phun *dung dịch natri periodat* 0,2 %, để khô bản mỏng trong luồng khí lạnh. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 15 phút. Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải có vị trí, màu sắc và kích thước tương ứng với vết chính của dung dịch đối chiếu.

B. Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương khoảng 7 g sorbitol trong 10 ml nước. Lấy 1 ml dung dịch này, thêm 2 ml *dung dịch sắt (II) sulfat* 8 % (TT) và 1 ml *dung dịch natri hydroxyd* 20 % (TT), dung dịch xuất hiện màu xanh lam chuyển dần sang xanh lục nhưng không được có tủa đục.

C. Lấy 3 ml *dung dịch pyrocatechol* 10 % mới pha, làm lạnh trong nước đá, thêm 6 ml *acid sulfuric* (TT). Thêm vào 3 ml hỗn hợp trên 0,3 ml dung dịch chế phẩm có nồng độ sorbitol khoảng 10 % trong nước không có carbon dioxyd (TT), đun nóng nhẹ 30 giây, có màu hồng xuất hiện.

Độ mịn

Thuốc bột phải đạt yêu cầu Bột rất mịn (Phụ lục 3.5).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6)

(0,5 g, sấy chân không ở 80 °C, phosphor pentoxyd, 3 h).

Định lượng

Cân chính xác một lượng chế phẩm tương đương khoảng 0,4 g sorbitol vào bình định mức 100 ml, thêm

nước đến định mức. Lắc đều. Lấy chính xác 10 ml dung dịch trên vào bình nón 250 ml, thêm 20 ml *dung dịch natri periodat* 2,14 % (TT) và 2 ml *dung dịch acid sulfuric* 1 M (TT), đun nóng trên cách thủy đúng 15 phút. Để nguội, thêm 3 g *natri hydrocarbonat* (TT) bằng cách thêm từng lượng nhỏ, thêm chính xác 25,0 ml *dung dịch natri arsenit* 0,1 M (CD), lắc đều và thêm 5 ml *dung dịch kali iodid* 20 % (TT), để yên 15 phút. Chuẩn độ bằng *dung dịch iod* 0,1 N (CD) đến màu vàng.

Tiến hành song song với mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch iod* 0,1 N (CD) tương đương với 1,822 mg $C_6H_{14}O_6$.

Bảo quản

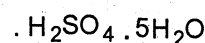
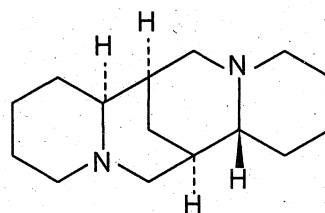
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc nhuận tràng thẩm thấu.

Hàm lượng thường dùng

5 g.

SPARTEIN SULFAT***Sparteini sulfas***

$C_{15}H_{26}N_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 5H_2O$

P.t.l: 422,4

Sparteine sulfat là muối sulfat của dodecahydro methano-7,14 2H,6H-dipyrido[1,2-a: 1', 2'-e][diazocin- 1,5]-(7S, 7aR, 14S, 14aS), phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{15}H_{28}O_4N_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu. Dễ tan trong nước và ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: C, D, E.

Nhóm II: A, B, E.

A. Phô hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phô hồng ngoại của sparteine sulfat chuẩn.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

C. Trên sắc ký đồ thu được ở phép thử “Tạp chất liên quan”, vết chính của dung dịch thử phải giống vết chính của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước.

D. Hòa tan 1 g chế phẩm trong 10 ml nước. Thêm 1 ml dung dịch thủy ngân (II) clorid 5 % (TT) vào 5 ml dung dịch trên, không tạo thành tủa. Thêm từng giọt, vừa thêm vừa lắc mạnh 0,5 ml acid hydrocloric (TT), tủa xuất hiện. Thêm 1 ml dung dịch natri hydroxyd 10 N (TT) vào phần dung dịch còn lại, tạo thành một lớp đục như sữa, đun nóng nhẹ trong cách thủy sẽ tụ lại thành từng giọt dầu nhỏ trên bề mặt.

E. Chế phẩm cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S phải từ 3,0 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ -26° đến -30°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Diethylamin - ethyl acetat - cyclohexan (5 : 25 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,1 g spartein sulfat chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10 ml bằng methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong vòng 5 phút, sau đó để bản mỏng nguội. Phun lên bản mỏng dung dịch kali iodobismuthat (TT) tới khi xuất hiện các vết. Trên sắc ký đồ thu được với dung dịch thử không được có bất cứ vết phụ nào ngoài vết chính có màu đậm hơn vết chính của sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu (2) và chỉ cho phép một vết có thể đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu (3).

Mất khối lượng do làm khô

Từ 19,5 % đến 22,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,0 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1). Dùng cân của phép thử “Mất khối lượng do làm khô”.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 30 ml acid acetic khan (TT). Thêm 1 ml anhydrid acetic (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD). Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD) tương đương với 33,24 mg $C_{15}H_{28}O_4N_2S$.

Bảo quản

Trong lọ kín.

THUỐC TIÊM SPARTEIN SULFAT

Injectio Sparteini sulfatis

Là dung dịch vô khuẩn của spartein sulfat trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng của spartein sulfat,

$C_{15}H_{26}N_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 5H_2O$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Diethylamin - ethyl acetat - cyclohexan (5 : 25 : 70)

Dung dịch thử: Làm bay hơi một thể tích chế phẩm tương đương khoảng 0,1 g spartein sulfat, hòa tan cần trong methanol (TT) vừa đủ 5 ml.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,1 g spartein sulfat chuẩn trong methanol (TT) vừa đủ 5 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai bản mỏng đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 5 phút. Để nguội và phun dung dịch kali iodobismuthat (TT) tới khi xuất hiện các vết.

Trên sắc ký đồ thu được, vết chính của dung dịch thử phải tương đương với vết chính của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

B. Làm bay hơi một thể tích chế phẩm tương đương khoảng 1 g spartein sulfat, hòa tan cần trong 10 ml nước. Thêm 1 ml dung dịch thủy ngân (II) clorid (TT) vào 5 ml dung dịch trên, không tạo thành tủa. Thêm từng giọt vừa thêm vừa lắc mạnh 0,5 ml acid hydro-

cloric (TT), tựa xuất hiện. Thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* vào phần *dung dịch* còn lại, tạo thành một lớp đục như sữa, đun nóng nhẹ trong cách thủy sẽ tụ lại thành từng giọt dầu nhỏ trên bề mặt.

C. Chế phẩm cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).

pH

3,0 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Lấy chính xác một lượng chế phẩm tương đương khoảng 0,5 g spartein sulfat cho vào một bình gạn, thêm 8 ml *amoniac (TT)*. Chiết 4 lần bằng *ether (TT)*, mỗi lần 20 ml. Lọc dịch chiết *ether* qua một phễu có miếng bông nhỏ, trên có khoảng 2 g *natri sulfat khan (TT)*. Rửa phễu bằng 10 ml *ether (TT)*. Tập trung dịch chiết và dịch rửa, làm bốc hơi *ether* trên cách thủy đến khi còn khoảng 10 ml thì làm khô bằng một luồng không khí. Hòa cần với 20 ml *ethanol 90 %*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch đỏ methyl (TT)* làm chỉ thị. Song song làm một mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 0,04224 g $C_{15}H_{26}N_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 5H_2O$.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

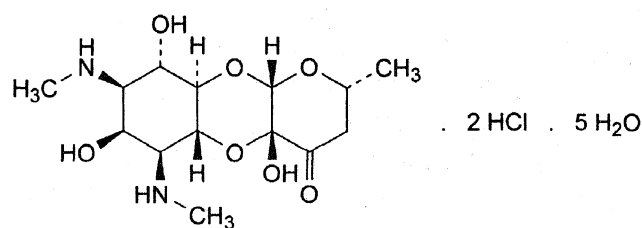
Trợ tim.

Hàm lượng thường dùng

Dung dịch tiêm 5 %.

SPECTINOMYCIN HYDROCLORID

Spectinomycini hydrochloridum



$C_{14}H_{24}N_2O_7 \cdot 2HCl \cdot 5H_2O$

P.t.l: 495,4

Spectinomycin hydroclorid là (2*R*,4*aR*,5*aR*,6*S*,7*S*,8*R*,9*S*,9*aR*,10*aS*)-4*a*,7,9-trihydroxy-2-methyl-6,8-bis(methylamino)-decahydro-4*H*-pyrano[2,3-*b*][1,4]benzodioxin-4-on dihydroclorid pentahydrat, chất kháng khuẩn được sản xuất bởi *Streptomyces spectabilis* hay các phương pháp khác, phải chứa từ 95,0 % đến 100,5 % $C_{14}H_{24}N_2O_7 \cdot 2HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hay gần như trắng, hơi hút ẩm. Dễ tan trong nước, rất khó tan trong *ethanol 96 %*, thực tế không tan trong *ether*.

Định tính

A. Phở hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phở hồng ngoại của spectinomycin hydroclorid chuẩn.

B. Pha loãng 1,0 ml *dung dịch S* đến 10 ml bằng *nước*. *Dung dịch* thu được phải cho phản ứng A của phép thử ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* để được 20,0 ml.

Pha loãng 2,0 ml *dung dịch S* thành 20,0 ml bằng *nước*. *Dung dịch* thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của *dung dịch S* phải từ 3,8 đến 5,6 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +15° đến +21°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Dùng *dung dịch S* trong vòng 20 phút sau khi pha để thử.

Tạp chất liên quan

Không được quá 1,0 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - pyridin - *nước* - propanol (5 : 5 : 40 : 50).

Dung dịch thử: Pha loãng 2,0 ml *dung dịch S* thành 10 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml *dung dịch thử* thành 100 ml bằng *nước*.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi *dung dịch* trên. Triển khai sắc ký đến khi *dung môi* đi được 12 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng khí nóng và phun *dung dịch kali permanganat 5 %*. Để yên bản mỏng 2 đến 3 phút. Bất kỳ vết phụ nào, ngoài vết chính, trên sắc ký đồ của *dung dịch thử* không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của *dung dịch đối chiếu*.

Nước

Từ 16,0 % đến 20,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,000 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không tiến hành tiệt khuẩn thì phải đạt yêu cầu về thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,09 EU/mg (Phụ lục 13.2).

Nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không tiến hành loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải thử chỉ tiêu này. Chuẩn bị các dung dịch bằng cách dùng *dung dịch natri hydrocarbonat 0,42 %*.

Định lượng

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 0,150 g phenazon (TT) trong dimethylformamid (TT) để được 100,0 ml.

Đề yên các dung dịch thử và dung dịch chuẩn 1 giờ rồi tiến hành định lượng ngay.

Dung dịch chuẩn: Cân 60,0 mg spectinomycin hydrochlorid chuẩn vào bình định mức 20,0 ml. Thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn nội và 2,0 ml hexamethyldisilazan (TT), lắc kỹ để hòa tan và thêm dimethylformamid (TT) đến vạch.

Dung dịch thử (1): Cân 60,0 mg chế phẩm vào bình định mức 20,0 ml. Thêm 10 ml dimethylformamid (TT) và 2,0 ml hexamethyldisilazan (TT), lắc kỹ để hòa tan và thêm dimethylformamid (TT) đến vạch.

Dung dịch thử (2): Cân 60,0 mg chế phẩm vào bình định mức 20,0 ml. Thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn nội và 2,0 ml hexamethyldisilazan (TT), lắc kỹ để hòa tan và thêm dimethylformamid (TT) đến vạch.

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (1,5 m × 4 mm) được nhồi diatomit đã được silan hóa dùng cho sắc ký khí (TT) và đã được tẩm 3 % (kl/kl) hỗn hợp của polyphenylmethylsiloxan (TT).

Khí mang là nitrogen dùng cho sắc ký khí (TT), lưu lượng 45 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

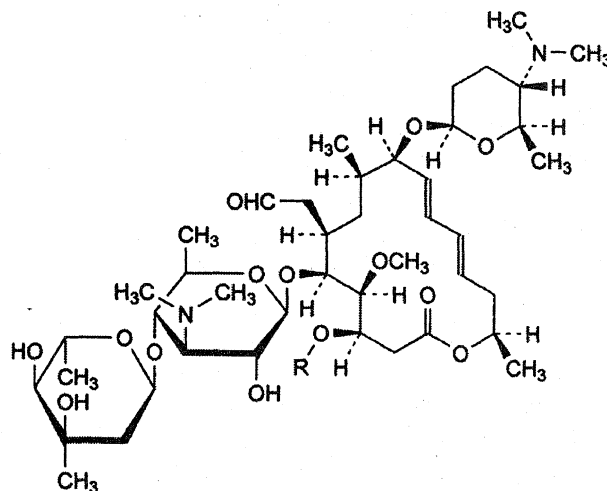
Nhiệt độ: Cột ở 200 °C, buồng tiêm và detector ở từ 200 °C đến 230 °C.

Cách tiến hành:

Tiêm một thể tích đã chọn của các dung dịch thử. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) độ phân giải giữa pic chính và pic chuẩn nội ít nhất là 8,0. Tiêm lần lượt dung dịch thử (2) và dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, ở nhiệt độ không quá 30 °C. Nếu chế phẩm vô khuẩn thì phải bảo quản trong đồ đựng kín và vô khuẩn.

SPIRAMYCIN**Spiramicinum**

Thành phần	R	Công thức phân tử	Phân tử lượng
Spiramicin I	H	C ₄₃ H ₇₄ N ₂ O ₁₄	843,1
Spiramicin II	COCH ₃	C ₄₅ H ₇₆ N ₂ O ₁₅	885,1
Spiramicin III	CO-CH ₂ -CH ₃	C ₄₆ H ₇₈ N ₂ O ₁₅	899,1

Spiramicin là một kháng sinh nhóm macrolid được tạo ra khi nuôi cấy các chủng vi khuẩn *Streptomyces ambofaciens* hoặc thu được bằng các phương pháp khác. Thành phần chính là (4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[[3,6-dideoxy-4-O-(2,6-dideoxy-3-C-methyl-α-L-ribo-hexopyranosyl)-3-(dimethylamino)-β-D-glucopyranosyl]oxy]-4-hydroxy-5-methoxy-9,16-dimethyl-7-(2-oxoethyl)-10-[[2,3,4,6-tetradeoxy-4-(dimethylamino)-D-erythro-hexopyranosyl]oxy]-oxacyclohexadeca-11,13-dien-2-on (spiramicin I, p.t.l: 843). Ngoài ra còn có spiramicin II (4-O-acetylspi-ramycin I) và spiramicin III (4-O-propanoylspiramicin I). Hoạt lực không ít hơn 4100 IU trong 1 mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc hơi ngà vàng, hút ẩm nhẹ. Khó tan trong nước, dễ tan trong aceton, trong ethanol 96 % và trong methanol.

Định tính

A. Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng tiếp 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng methanol (TT). Phổ hấp thụ từ ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ 220 nm đến 350 nm có một cực đại ở 232 nm. Độ hấp thụ riêng ở cực đại này là khoảng 340.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Isopropanol - dung dịch amoni acetat 15 % đã điều chỉnh đến pH 9,6 bằng dung dịch natri hydroxyd 40 % - ethyl acetat (4 : 8 : 9). Trộn đều, để yên cho tách lớp và sử dụng lớp trên.

Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40 mg spiramycin chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 40 mg erythromycin chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để bay hơi hết dung môi ngoài không khí. Phun *dung dịch anisaldehyd trong ethanol (TT)* và sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 phút. Vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Nếu trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử xuất hiện một hoặc hai vết khác có giá trị R_f hơi cao hơn giá trị R_f của vết chính, những vết này phải tương ứng về vị trí và màu sắc với các vết phụ trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) và khác biệt với các vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)* và thêm 25 ml nước. Điều chỉnh dung dịch đến pH 8 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng nước. Thêm vào 5 ml dung dịch thu được 2 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích nước và 2 thể tích *acid sulfuric (TT)*, màu nâu xuất hiện.

pH

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 100 ml với *nước không có carbon dioxyl (TT)*. pH của dung dịch thu được (Phụ lục 6.2) từ 8,5 đến 10,5.

Góc quay cực riêng

Từ -80° đến -85°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *dung dịch acid acetic 0,2 M (TT)* và pha loãng với cùng dung môi thành 50,0 ml để thử.

Thành phần

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Không ít hơn 80,0 % spiramycin I, không quá 5,0 % spiramycin II và không quá 10,0 % spiramycin III; tổng hàm lượng spiramycin I, spiramycin II và

spiramycin III không ít hơn 90,0 %, các hàm lượng này đều tính theo chế phẩm đã làm khô.

Pha động, các dung dịch sắc ký và điều kiện sắc ký theo quy định trong phần tạp chất liên quan. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Tính toán hàm lượng phần trăm các thành phần dựa trên hàm lượng các thành phần spiramycin I, spiramycin II và spiramycin III của chuẩn.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Chuẩn bị các dung dịch sắc ký ngay trước khi sử dụng.

Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm pH 2,2 có chứa natri perchlorat 0,93 % (30 : 70).

Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp acetonitril - nước (3 : 7).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong dung môi hòa mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg spiramycin chuẩn trong dung môi hòa mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng dung môi hòa mẫu.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng dung môi hòa mẫu.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 5 mg spiramycin chuẩn trong 25 ml pha động, sau đó làm nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 30 phút.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 μ m), diện tích bề mặt riêng 350 m²/g và khoảng cách giữa các hạt là 0,01 μ m.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 232 nm.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

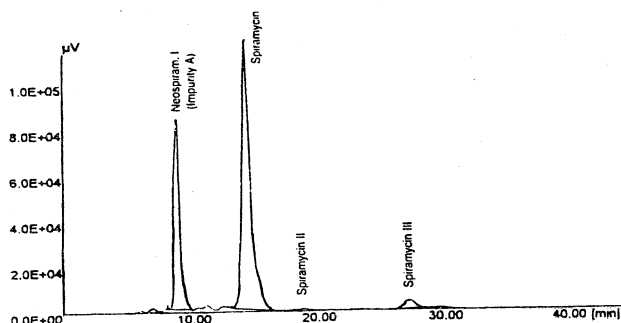
Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ ít nhất bằng 50 % thang đo.

Tiêm dung dịch đối chiếu (3) và dung dịch đối chiếu (4). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) không có pic nào có thời gian lưu tương đối so với pic spiramycin I là khoảng 1,1 và trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic tạp chất A (neospiramycin I) (được rửa giải đầu tiên) và spiramycin I (rửa giải trong khoảng 13 phút đến 17 phút) ít nhất là 6,3. Nếu cần thiết, điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động (tăng nồng độ này để giảm thời gian lưu hoặc giảm nồng độ này để tăng thời gian lưu).

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Ghi lại sắc ký đồ của dung dịch thử trong một khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của spiramycin I. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử: Diện tích của bất

ký pic nào ngoài các pic của spiramycin I, II, III, không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (2 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2).



Hình 1: Sắc ký đồ của spiramycin

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 6. Dùng 2 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 3,5 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 80 °C; áp suất không quá 670 Pa; phosphor pentoxyd; 6 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.8, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Tiến hành theo "Xác định hoạt lực kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9). Dùng phương pháp khuếch tán; chủng chỉ thị: *Bacillus subtilis* ATCC 6633; dung môi: methanol (TT); chất hòa loãng: dung dịch đệm số 2; môi trường: môi trường số 1 được điều chỉnh đến pH 8,0 ± 0,1; khoảng nồng độ của dung dịch đem thử: 40 IU/ml đến 160 IU/ml; nhiệt độ ủ: 32 °C đến 35 °C.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN SPIRAMYCIN

Tabellae Spiramycini

Là viên nén bao phim chứa spiramycin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén", mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng spiramycin, phải từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên bao phim phải nhẵn, không nứt cạnh, không dính tay, đồng đều về màu sắc. Bên trong của viên bao có màu trắng ngà.

Định tính

A. Hòa một lượng bột viên đã nghiền mịn chứa khoảng 100 mg spiramycin trong 100 ml methanol (TT), lọc. Hút 1 ml dịch lọc pha loãng thành 100 ml bằng methanol (TT). Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở dải sóng từ 220 nm đến 350 nm có cực đại hấp thụ tại bước sóng 232 nm, hệ số hấp thụ riêng A (1 %, 1 cm) ở bước sóng này khoảng 340.

B. Hòa một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 500 mg spiramycin trong 10 ml dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT), thêm 25 ml nước, lắc đều và lọc. Điều chỉnh dịch lọc đến pH 8 bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M và pha loãng với nước thành 50 ml. Thêm vào 5 ml dung dịch này 2 ml hỗn hợp nước - acid sulfuric (1 : 2), xuất hiện màu nâu.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Isopropanol - dung dịch amoni acetat 15 % đã điều chỉnh về pH 9,6 bằng dung dịch natri hydroxyd 40 % - ethyl acetat (4 : 8 : 9). Trộn đều hỗn hợp, để yên tách lớp và sử dụng lớp trên.

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 40 mg spiramycin với 10 ml methanol (TT), lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch 0,4 % spiramycin chuẩn trong methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch 0,4 % erythromycin A chuẩn trong methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng. Sau đó phun lên bản mỏng dung dịch anisaldehyd trong ethanol (TT), sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 phút. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc, kích thước và phải khác với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Định lượng

Tiến hành theo chuyên luận "Xác định hoạt lực kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9),

dùng phương pháp khuếch tán. Chủng chỉ thị, môi trường định lượng, dung dịch đệm như chuyên luận "Spiramycin".

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Lắc một lượng bột viên với 10 ml *methanol* (TT) và dung dịch đệm số 2 để được dung dịch thử gốc có nồng độ khoảng 2000 IU/ml (ước lượng theo nhãn). Từ dung dịch thử gốc pha loãng với dung dịch đệm số 2 để được dung dịch thử có nồng độ trong khoảng 40 IU/ml đến 160 IU/ml. Dung dịch thử nghiệm chỉ dùng trong ngày.

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín, bảo quản nơi thoáng mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

375 000 IU; 1 500 000 IU; 3 000 000 IU.

STEARYL ALCOL

Alcohol stearylicus

Stearyl alcol là hỗn hợp các alcol rắn, phải chứa không dưới 95,0 % octadecanol ($C_{18}H_{38}O$, p.t.l : 270,5).

Tính chất

Hạt, khối hay vảy màu trắng, nhờn. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol 96 %, dễ tan trong ether. Khi đun chảy, hỗn hòa với dầu béo, parafin lỏng và mỡ cừu nóng chảy.

Định tính

Trên sắc ký đồ thu được trong phần định lượng, thời gian lưu pic chính của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 20 ml *ethanol* 96 % (TT) bằng cách đun đến sôi. Để nguội. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu N_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Nhiệt độ nóng chảy

57 °C đến 60 °C (Phụ lục 6.7).

Chỉ số acid

Không được quá 1,0 (Phụ lục 7.2).

Chỉ số hydroxyl

197 đến 217 (Phụ lục 7.4, phương pháp A).

Chỉ số iod

Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.5).

Dùng 2,0 g chế phẩm hòa tan trong 25 ml *cloroform* (TT), đun nóng nếu cần.

Chỉ số xà phòng hóa

Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.7).

Dùng 10,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,100 g stearyl alcol chuẩn trong *ethanol* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg cetyl alcol chuẩn trong 4,5 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 5,0 ml bằng *ethanol* (TT).

Điều kiện sắc ký

Cột thép không gỉ (2 m × 2 mm) được nhồi diatomit loại dùng cho sắc ký khí, đã tẩm 10 % (kl/kl) *poly-(dimethyl)siloxan* (TT).

Khí mang: Nitrogen cho sắc ký khí, tốc độ 30 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ cột 220 °C, nhiệt độ buồng tiêm 275 °C và detector 250 °C.

Thể tích tiêm: 2 µl

Cách tiến hành

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic tương ứng với cetyl alcol và pic tương ứng với stearyl alcol ít nhất là 4,0. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Hàm lượng octodecanol được xác định bằng phương pháp chuẩn hóa.

Bảo quản

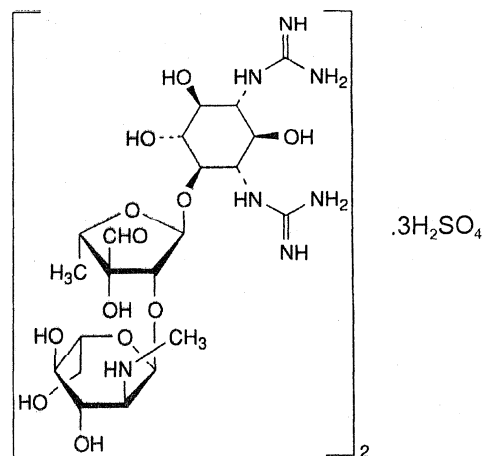
Bao bì kín, tránh ánh sáng

Loại thuốc

Tá dược.

STREPTOMYCIN SULFAT

Streptomyces sulfas



$(C_{21}H_{39}N_7O_{12})_2 \cdot 3H_2SO_4$

P.t.l: 1457,0

Streptomycin sulfat là bis[*N,N'*-bis(aminoiminomethyl)-4-*O*-[5-deoxy-2-*O*-[2-deoxy-2-(methylamino)- α -L-glucopyranosyl]-3-C-formyl- α -L-lyxofuranosyl]-D-streptamin] trisulfat, thu được từ nuôi cấy chủng *Streptomyces griseus* hoặc được điều chế bằng các phương pháp khác. Có thể cho thêm chất ổn định. Hoạt lực không được dưới 720 IU/mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Sản xuất

Streptomycin sulfat được sản xuất bằng phương pháp đã được thiết lập để loại bỏ hoặc giảm đến mức tối thiểu chất hạ huyết áp. Phương pháp sản xuất này đã được đánh giá để chứng tỏ rằng chế phẩm nếu được thử phải đạt phép thử sau:

Độc tính bất thường

Phải đạt quy định (Phụ lục 13.5).

Tiêm vào mỗi chuột nhất 0,5 ml dung dịch có chứa 1 mg chế phẩm trong nước cất pha tiêm.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng, dễ hút ẩm. Rất tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Trộn 0,3 g *carbomer* (TT) với 240 ml nước, để yên trong 1 giờ và thỉnh thoảng lắc nhẹ nhàng, điều chỉnh pH đến 7 bằng cách thêm từ từ dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), thêm 30 g *silica gel H* (TT). Tráng bản mỏng dày 0,75 mm.

Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 1 giờ, để nguội và sử dụng ngay.

Dung môi khai triển: Dung dịch kali dihydrophosphat 7,0 % (TT).

Thuốc thử hiện màu: Hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch có chứa 0,2 % 1,3-di-hydroxynaphthalen (TT) trong ethanol 96 % (TT) và dung dịch có chứa 46,0 % (kl/tt) acid sulfuric (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 10 ml nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg streptomycin sulfat chuẩn trong 10 ml nước.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg kanamycin monosulfat chuẩn, 10 mg neomycin sulfat chuẩn và 10 mg streptomycin sulfat chuẩn trong 10 ml nước.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Làm khô bản mỏng bằng một luồng không khí nóng, phun thuốc thử hiện màu, sấy bản mỏng ở 150 °C trong khoảng 5 phút đến 10 phút. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, kích thước và màu sắc. Phép thử chỉ có

giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho ba vết tách ra rõ ràng.

B. Hòa tan 5 mg đến 10 mg chế phẩm trong 4 ml nước, thêm 1 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT). Đun nóng trong cách thủy 4 phút. Thêm hơi dư dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT) và 0,1 ml dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT), màu tím tạo thành.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml nước, thêm 1 ml dung dịch 1-naphtol (TT). Thêm 2 ml hỗn hợp đồng thể tích dung dịch natri hypochlorit mạnh (TT) và nước. Màu đỏ tạo thành.

D. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml nước, thêm 1 ml dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT). Đun nóng trong cách thủy 2 phút. Thêm 2 ml dung dịch có chứa 0,5 % 1-naphtol (TT) trong dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT) và đun nóng trong cách thủy 1 phút, màu vàng nhạt tạo thành.

E. Chế phẩm phải cho các phản ứng của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 10 nước không có carbon dioxyd (TT).

Dung dịch S có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu số 3 của thang màu mẫu có màu gần giống nhất (Phụ lục 9.3; phương pháp 2). Để dung dịch S ở nhiệt độ khoảng 20 °C, tránh ánh sáng trong 24 giờ. Dung dịch không được đục hơn hỗn dịch đục mẫu số II (Phụ lục 9.2).

pH

pH của dung dịch S phải từ 4,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Methanol

Không được quá 0,3 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 12,0 mg methanol (TT) thành 100 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột sắc ký (1,5 m đến 2,0 m $\times$ 2 mm đến 4 mm) được nhồi pha tĩnh là ethylvinylbenzen-divinylbenzen copolyme (150 μ m đến 180 μ m).

Khí mang là nitrogen dùng cho sắc ký với tốc độ dòng 30 ml/min đến 40 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ cột trong khoảng 120 °C đến 140 °C, nhiệt độ buồng tiêm và nhiệt độ detector cao hơn nhiệt độ cột ít nhất 50 °C.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu vào cột sắc ký, ghi lại sắc ký đồ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích pic tương ứng với methanol không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Streptomycin B

Không được quá 3,0 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - methanol - toluen (25 : 25 : 50).

Thuốc thử hiện màu: Hỗn hợp đồng thể tích mới pha gồm *dung dịch 1,3-dihydroxynaphtalen 0,2 % trong ethanol 96 % (TT)* và *dung dịch acid sulfuric 20 % (tt/tt) (TT)*. Thuốc thử chỉ pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong hỗn hợp mới pha *acid sulfuric - methanol (3 : 97)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Đun hồi lưu trong 1 giờ, làm nguội, tráng sinh hàn hồi lưu với *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với *methanol (TT)* (dung dịch 1,0 %).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 36 mg *manose (TT)* trong hỗn hợp mới pha *acid sulfuric - methanol (3 : 97)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Đun hồi lưu trong 1 giờ, làm nguội, tráng sinh hàn hồi lưu bằng *methanol (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 5 ml dung dịch thu được thành 50 ml với *methanol (TT)* (dung dịch streptomycin B 0,03 %; 1 mg manose tương đương với 4,13 mg streptomycin B).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 13 cm đến 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí, phun bản mỏng với thuốc thử hiện màu, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 phút. Trên sắc ký đồ dung dịch thử, vết tương ứng với streptomycin B không được đậm hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 7,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 60 °C; phosphor pentoxyd; áp suất không quá 0,1 kPa; 24 h).

Tro sulfat

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Sulfat

Phải từ 18,0 % đến 21,5 %; tính theo chế phẩm đã làm khô.

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 100 ml *nước*, điều chỉnh pH của dung dịch đến 11 bằng *amoniac (TT)*. Thêm chính xác 10,0 ml *dung dịch bari clorid 0,1 M (CD)* và khoảng 0,5 mg *đỏ tía phtalein (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CD)*, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)* khi dung dịch bắt đầu chuyển màu và tiếp tục chuẩn độ cho đến hết màu xanh tím. Song song tiến hành với mẫu trắng.

1 ml *dung dịch bari clorid 0,1 M (CD)* tương đương với 9,606 mg sulfat (SO₄).

Phép thử đo màu

Sấy khô chế phẩm và streptomycin sulfat chuẩn ở 60 °C, với *phosphor pentoxyd (TT)*, trong chân không có áp suất không quá 0,1 kPa trong 24 giờ. Hòa tan 0,100 g chế phẩm đã sấy khô trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Tương tự chuẩn bị dung dịch đối chiếu với 0,100 g streptomycin sulfat chuẩn đã sấy khô. Hút chính xác 5,0 ml mỗi dung dịch cho vào riêng biệt hai bình định mức dung tích 25,0 ml; cho 5,0 ml *nước* vào một bình định mức dung tích 25,0 ml khác. Cho vào mỗi bình 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (CD)* và đun nóng trong cách thủy chính xác 10 phút. Làm nguội trong nước đá trong chính xác 5 phút. Thêm 3 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 1,5 % trong dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*. Thêm *nước* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Chính xác 20 phút sau khi thêm sắt (III) amoni sulfat, đo độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu tại bước sóng 525 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 2 cm, dùng dung dịch được chuẩn bị với 5 ml *nước* làm mẫu trắng. Độ hấp thụ của dung dịch thử không được nhỏ hơn 90,0 % độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,25 EU/mg (Phụ lục 13.2), nếu chế phẩm được dùng để pha thuốc tiêm mà không áp dụng các biện pháp loại bỏ nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng

Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

Bảo quản

Trong bao bì kín. Nếu chế phẩm là vô khuẩn, bảo quản trong bao bì vô khuẩn, đảm bảo và kín.

Nhãn

Phải ghi rõ tên và hàm lượng chất ổn định nếu có, hoặc chế phẩm không có nội độc tố vi khuẩn.

Loại thuốc

Thuốc chống lao.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM STREPTOMYCIN

Streptomycini pro injectione

Bột pha tiêm streptomycin là bột vô khuẩn của streptomycin sulfat đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với “nước vô khuẩn để tiêm” ngay trước khi dùng.

Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng streptomycin, $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$, trong chế phẩm phải có từ 95,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Trộn 0,3 g *carbomer* (TT) với 240 ml nước và để yên 1 giờ, thỉnh thoảng lắc rồi điều chỉnh tới pH 7,0 bằng cách thêm từ từ và lắc liên tục *dung dịch natri hydroxyd loãng* (TT), sau đó thêm 30 g *silica gel H* (TT). Lắc đều rồi rải lên bản mỏng để có độ dày khoảng 0,7 mm. Sấy khô bản mỏng ở 110 °C trong 1 giờ, để nguội và dùng ngay.

Dung môi khai triển: *Dung dịch kali dihydrophosphat* 7 %.

Dung dịch thử: Pha một lượng bột chế phẩm trong nước để có nồng độ streptomycin khoảng 0,08 %.

Dung dịch đối chiếu (1): *Dung dịch streptomycin sulfat* chuẩn 0,1 %.

Dung dịch đối chiếu (2): Là dung dịch chứa kanamycin monosulfat chuẩn, neomycin sulfat chuẩn và streptomycin sulfat chuẩn trong nước, nồng độ mỗi chất là 0,1 %.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra. Làm khô bản mỏng bằng luồng không khí nóng và phun bằng hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch naphthalen 1-3-diol* 0,2 % trong *ethanol* 96 % và *dung dịch acid sulfuric* 46 %. Sấy bản mỏng ở 150 °C từ 5 phút đến 10 phút.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 3 vết tách biệt.

B. Lấy 50 mg chế phẩm cho vào ống nghiệm, thêm 4 ml nước, 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT), đun nóng trên cách thủy 4 phút. Để nguội, thêm 3 giọt *dung dịch acid hydrocloric 25 %* (TT) và 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 5 %* (TT), xuất hiện màu tím.

C. Chế phẩm phải có phản ứng đặc trưng của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm

Dung dịch chế phẩm chứa 25 % streptomycin có pH từ 4,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 7,0 % (Phụ lục 9.6).

(Dùng 1,0 g, ở 60 °C, áp suất không quá 0,1 kPa, trong 24 giờ, dùng phosphor pentoxyd).

Streptomycin B

Không được quá 3,0 %.

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Acid acetic băng - methanol - toluen* (25 : 25 : 50)

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm có chứa khoảng 0,16 g streptomycin trong 5 ml hỗn hợp dung môi A [*acid sulfuric- methanol* (3 : 97)] mới pha. Đun hồi lưu dưới ống sinh hàn ngược trong 1 giờ, để nguội, tráng sinh hàn với *methanol* (TT), gộp vào dịch chiết và thêm *methanol* (TT) vừa đủ 20 ml (dung dịch có chứa streptomycin 1 %).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,036 g D-manose trong 5 ml hỗn hợp dung môi A mới pha. Đun nóng dưới ống sinh hàn ngược trong 1 giờ, để nguội, tráng sinh hàn bằng *methanol* (TT) gộp vào dịch chiết và thêm *methanol* (TT) vừa đủ 50 ml. Pha loãng 5 ml dung dịch này thành 50 ml bằng *methanol* (TT), (1 mg D-manose tương đương 4,13 mg streptomycin B, do vậy dung dịch đối chiếu này chứa một lượng tương đương 0,03 % streptomycin B).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy ra để khô bản mỏng ngoài không khí. Phun lên bản mỏng hỗn hợp mới pha đồng thể tích gồm *dung dịch naphthalen-1,3-diol* 0,2 % trong *ethanol* 96 % và *dung dịch acid sulfuric* 20 % (tt/tt). Sấy ở 110 °C trong 5 phút. Bất kỳ vết nào tương ứng với streptomycin B trên sắc ký đồ của dung dịch thử đều không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Nội độc tố vi khuẩn

Tiến hành phương pháp thử theo chuyên luận “Phép thử nội độc tố vi khuẩn” (Phụ lục 13.2).

Hòa tan một lượng chế phẩm trong nước BET để thu được dung dịch có nồng độ streptomycin 10 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 2,5 đơn vị trong 1 ml. Giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Định lượng

Cân nhanh thuốc trong 10 lọ để tính khối lượng trung bình của thuốc trong 1 đơn vị chế phẩm và trộn đều nhanh. Cân chính xác một lượng bột đã trộn đều tương ứng khoảng 0,33 g streptomycin hòa tan trong nước vừa đủ 100,0 ml và tiến hành định lượng theo chuyên luận “Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật” (Phụ lục 13.9).

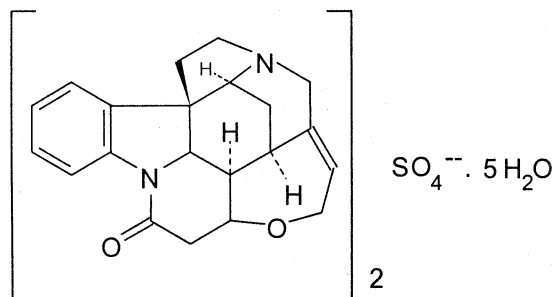
Tính hàm lượng streptomycin trong một đơn vị chế phẩm so với lượng ghi trên nhãn.
Hoạt lực lý thuyết của streptomycin là 1000 đơn vị quốc tế (IU) trong 1 mg.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng

1000 mg, tính theo streptomycin.

STRYCHNIN SULFAT***Strychnini sulfas***

$(C_{21}H_{22}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 5H_2O$

P.t.l: 857,0

Strychnin sulfat là strychnidin-10 on sulfat pentahydrat, chiết từ hạt cây *Strychnos nux - vomica* L. và các loài *Strychnos* sp. khác, họ Loganiaceae, phải chứa từ 97,0 % đến 100,5 % $(C_{21}H_{22}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Tinh thể kim không màu hay bột kết tinh trắng, không mùi.

Dễ tan trong nước sôi, hơi tan trong ethanol và nước lạnh, khó tan trong cloroform và không tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C, D.

Nhóm II: A, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của strychnin sulfat chuẩn.

B. Trong phép thử "Tập chất liên quan": vết chính của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính của dung dịch đối chiếu (1).

C. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml nước, thêm 0,1 ml amoniac đậm đặc (TT) và chiết bằng 5 ml cloroform (TT). Bốc hơi dịch chiết cloroform đến cạn trên cách thủy. Thêm vào cặn 0,1 ml acid sulfuric đậm đặc (TT) và 1 tinh thể kali dicromat (TT), xung quanh tinh thể có màu tím, màu đỏ, màu vàng khi lắc.

D. Chế phẩm cho phản ứng của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 25 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml dung dịch đỏ methyl (TT), dung dịch có màu đỏ. Khi thêm không quá 0,5 ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CD) dung dịch phải chuyển sang màu vàng.

Góc quay cực riêng

Từ -25° đến -29° , tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S để đo.

Brucin

Lấy 0,1 g chế phẩm, thêm 1 ml acid nitric (TT) và 0,2 ml nước, lắc cho tan hoàn toàn. Nếu dung dịch thu được có màu đỏ hay da cam thì không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu gồm 1 ml acid nitric (TT) và 0,2 ml dung dịch brucin 0,054 %.

Tập chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Diethylamin - ethyl acetat - cyclohexan (15 : 25 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,1 g strychnin sulfat chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 0,5 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 100 ml bằng methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy ra sấy khô bản mỏng ở 100°C đến 105°C trong 15 phút, để nguội. Phun dung dịch kali iodobismuthat (TT) cho đến khi các vết đỏ cam xuất hiện. Ngoài vết chính, bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (2).

Nước

Từ 10,0 % đến 13,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,10 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 25 ml acid acetic khan (TT), thêm 1 ml anhydrid acetic (TT). Định lượng

bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2) hoặc bằng chỉ thị *xanh malachit (TT)*.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)* tương đương với 76,70 mg $(C_{10}H_{10}N_4O_2)_2 \cdot H_2SO_4$.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

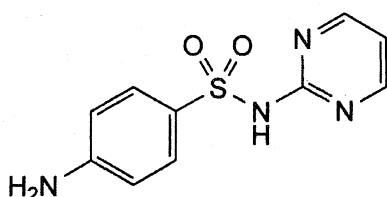
Kích thích thần kinh trung ương và tủy sống, kích thích tiêu hóa.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

SULFADIAZIN

Sulfadiazinum



$C_{10}H_{10}N_4O_2S$

P.t.l: 250,3

Sulfadiazin là 4-amino-N-pyrimidin-2-yl-benzensulfonamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{10}H_{10}N_4O_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hoặc tinh thể màu trắng, trắng vàng hoặc trắng hơi hồng. Thực tế không tan trong nước, khó tan trong acetone, rất khó tan trong ethanol 96 %, tan trong dung dịch kiềm hydroxyd và trong dung dịch acid vô cơ loãng.

Điểm chảy khoảng 255 °C kèm phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của sulfadiazin chuẩn.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng ở phần thử tạp chất liên quan. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.

C. Lấy 3 g chế phẩm cho vào một ống nghiệm khô, nhúng phần dưới ống nghiệm với góc nghiêng 45° vào trong cách dầu silicon và đun nóng đến khoảng 270 °C. Chế phẩm bị phân hủy và tạo thành chất thăng hoa có màu trắng hoặc trắng ánh vàng. Chất này sau khi kết tinh lại bằng *toluen (TT)* và sấy khô ở 100 °C có nhiệt độ nóng chảy từ 123 °C đến 127 °C (Phụ lục 6.7).

D. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 10 ml với *nước*. Dung dịch thu được, không cần acid hóa, cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,8 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Dung dịch thu được có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V_5, VN_5 hoặc VL_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Lấy 1,25 g chế phẩm đã được nghiền mịn, thêm 25 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lắc đều. Đun nóng khoảng 70 °C trong 5 phút. Làm nguội trong nước đá khoảng 15 phút và lọc. Hút 20 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*, không được dùng quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD)* để làm chuyển màu của chỉ thị.

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,5 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 10 % - nước - nitromethan - dioxan (3 : 5 : 40 : 50).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 20 mg chế phẩm trong hỗn hợp amoniac - methanol (2 : 48) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 0,5 ml amoniac (TT) và pha loãng thành 5,0 ml với methanol (TT). Nếu dung dịch không trong, đun nóng nhẹ cho đến trong.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg sulfadiazin chuẩn trong hỗn hợp amoniac - methanol (2 : 48) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,50 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml với hỗn hợp amoniac - methanol (2 : 48).

Cách tiến hành:

Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Sấy khô bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử (2), bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)* và 50 ml *nước*. Thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh dung dịch trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CD)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CD)* tương đương với 25,03 mg $C_{10}H_{10}N_4O_2S$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

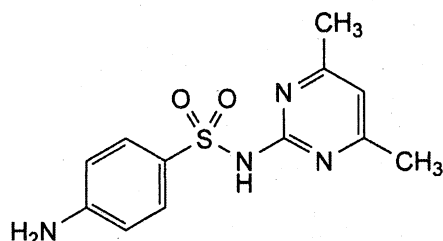
Kháng sinh.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

SULFADIMIDIN

Sulfadimidinum



$C_{12}H_{14}N_4O_2S$

P.t.l: 278,3

Sulfadimidin là 4-amino-*N*-(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)benzensulfonamid, chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{14}N_4O_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hoặc tinh thể màu trắng hoặc gần như trắng. Rất khó tan trong nước, tan trong aceton, khó tan trong ethanol 96 %, tan trong dung dịch kiềm hydroxyd và trong dung dịch acid vô cơ loãng.

Điểm chảy khoảng 197 °C kèm phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của sulfadimidin chuẩn.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng ở phần thử tạp chất liên quan. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.

C. Lấy 3 g chế phẩm cho vào một ống nghiệm khô, nhúng phần dưới ống nghiệm với góc nghiêng 45° vào trong cách dầu silicon và đun nóng đến khoảng 270 °C. Chế phẩm bị phân hủy và tạo thành chất thăng hoa có màu trắng hoặc trắng ánh vàng. Kết tinh lại bằng *toluen (TT)*, chất này sau khi được sấy khô ở 100 °C có nhiệt độ nóng chảy từ 150 °C đến 154 °C (Phụ lục 6.7).

D. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 10 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được, không cần acid hóa, cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Dung dịch thu được có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V_5, VN_5 hoặc VL_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Lấy 1,25 g chế phẩm đã được nghiền mịn, thêm 25 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lắc đều. Đun nóng khoảng 70 °C trong 5 phút. Làm nguội trong nước đá khoảng 15 phút và lọc. Hút 20 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*, không được dùng quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD)* để làm chuyển màu của chỉ thị.

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,5 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 10 % - nước - nitromethan - dioxan (3 : 5 : 40 : 50).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 20 mg chế phẩm trong hỗn hợp *amoniac - methanol* (2 : 48) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 0,5 ml *amoniac (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml bằng *methanol (TT)*. Nếu dung dịch không trong, đun nóng nhẹ cho đến trong.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg sulfadimidin chuẩn trong hỗn hợp *amoniac - methanol* (2 : 48) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,50 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng hỗn hợp *amoniac - methanol* (2 : 48).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Sấy khô bản mỏng nhiệt độ 100 °C đến

105 °C, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử (2), bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6)

(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)* và 50 ml nước. Thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh dung dịch trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 27,83 mg $C_{12}H_{14}N_4O_2S$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

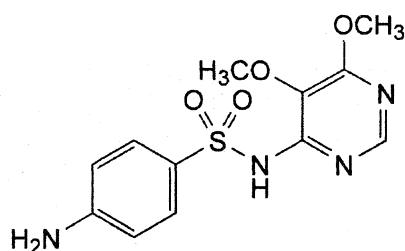
Kháng sinh.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén.

SULFADOXIN

Sulfadoxinum



$C_{12}H_{14}N_4O_4S$

P.t.l: 310,3

Sulfadoxin là 4-amino-N-(5,6-dimethoxypyrimidin-4-yl)benzenesulfonamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{14}N_4O_4S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hoặc tinh thể màu trắng hoặc trắng vàng. Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 % và

methanol, tan trong dung dịch kiềm hydroxyd loãng và trong dung dịch acid vô cơ loãng.

Điểm chảy khoảng 198 °C kèm phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của sulfadoxin chuẩn.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng ở phần thử tạp chất liên quan. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.

C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 1 ml *dung dịch acid sulfuric 40 % (tt/tt)*, đun nóng nhẹ. Tiếp tục đun nóng cho đến khi xuất hiện kết tủa tinh thể trắng (khoảng hai phút). Để nguội và thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Tiếp tục làm nguội, thêm 25 ml *ether (TT)* và lắc trong 5 phút. Tách lấy lớp ether. Làm khô bằng *natri sulfat khan (TT)* và lọc. Bay hơi ether trên cách thủy tới khô. Nhiệt độ nóng chảy của cặn từ 80 °C đến 82 °C hoặc từ 90 °C đến 92 °C (Phụ lục 6.7).

D. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 10 ml với nước. Dung dịch thu được, không cần acid hóa, cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Dung dịch thu được có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V_5, VN_5 hoặc VL_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Lấy 1,25 g chế phẩm đã được nghiền mịn, thêm 25 ml *nước không có carbon dioxid (TT)*, lắc đều. Đun nóng khoảng 70 °C trong 5 phút. Làm nguội trong nước đá khoảng 15 phút và lọc. Hút 20 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*, không được dùng quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* để làm chuyển màu của chỉ thị.

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,5 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 10 % - nước - nitromethan - dioxan (3 : 5 : 40 : 50).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong hỗn hợp amoniac - methanol (2 : 48) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 2 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với hỗn hợp amoniac - methanol (2 : 48).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg sulfadoxin chuẩn trong hỗn hợp amoniac - methanol (2 : 48) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,50 ml dung dịch thử (2) thành 100 ml với hỗn hợp amoniac - methanol (2 : 48).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Sấy khô bản mỏng nhiệt độ 100 °C đến 105 °C, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 50 ml nước. Thêm 3 g kali bromid (TT), làm lạnh dung dịch trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CD)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CD)* tương đương với 31,03 mg $C_{12}H_{14}N_4O_4S$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng ký sinh trùng sốt rét.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén (phối hợp với trimethoprim).

VIÊN NÉN SULFADOXIN VÀ PYRIMETHAMIN

Tabellae Sulfadoxini et Pyrimethamini

Là viên nén chứa sulfadoxin và pyrimethamin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng sulfadoxin, $C_{12}H_{14}N_4O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng pyrimethamin, $C_{12}H_{13}ClN_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄ dày 0,25 mm.

Dung môi khai triển: Heptan - cloroform - dung dịch methanol 5 % (tt/tt) trong ethanol - acid acetic băng (4 : 4 : 4 : 1).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg sulfadoxin, thêm 10 ml *dung dịch amoniac 2 % (tt/tt) trong methanol*, lắc kỹ trong 3 phút và lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch sulfadoxin chuẩn có nồng độ 10 mg/ml trong *dung dịch amoniac 2 % (tt/tt) trong methanol*.

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch pyrimethamin chuẩn có nồng độ 0,5 mg/ml trong *dung dịch amoniac 2 % (tt/tt) trong methanol*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với hai vết chính trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu về vị trí và màu sắc.

B. Trong phần định lượng, thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường: 1000 ml *đệm phosphat chuẩn pH 6,8 (TT)*.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 30 min.

Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với pha động (nếu cần). Tiến hành định lượng sulfadoxin và pyrimethamin hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động, điều kiện sắc ký và dung dịch chuẩn như phần Định lượng.

Yêu cầu:

Không ít hơn 60 % lượng sulfadoxin, $C_{12}H_{14}N_4O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Không ít hơn 60 % lượng pyrimethamin, $C_{12}H_{13}ClN_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch đệm pH 5,9 - acetonitril (4 : 1).
Dung dịch đệm pH 5,9: Thêm 1 ml triethylamin và 200 ml acetonitril vào 700 ml nước, điều chỉnh đến pH 5,9 bằng dung dịch acid acetic 1 %, sau đó thêm nước vừa đủ 1000 ml, trộn đều, lọc.

Dung dịch chuẩn gốc sulfadoxin: Cân chính xác khoảng 500 mg sulfadoxin chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 35 ml acetonitril (TT), lắc kỹ để hòa tan và pha loãng bằng pha động đến định mức, lắc đều.

Dung dịch chuẩn gốc pyrimethamin: Cân chính xác khoảng 25 mg pyrimethamin chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 35 ml acetonitril (TT), lắc kỹ để hòa tan và pha loãng bằng pha động đến định mức, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Hút chính xác 2,0 ml dung dịch chuẩn gốc sulfadoxin và 2,0 ml dung dịch chuẩn gốc pyrimethamin vào bình định mức 100 ml, pha loãng bằng pha động đến định mức.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 500 mg sulfadoxin và 25 mg pyrimethamin vào bình định mức 100 ml, thêm 35 ml acetonitril (TT) và lắc siêu âm 30 phút. Pha loãng bằng pha động đến định mức, lắc đều, lọc. Hút chính xác 2,0 ml dịch lọc vào bình định mức 100 ml, pha loãng bằng pha động đến định mức.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (30 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic sulfadoxin và pyrimethamin không nhỏ hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của từng chất trong 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

Tính hàm lượng sulfadoxin, $C_{12}H_{14}N_4O_4S$ và pyrimethamin, $C_{12}H_{13}ClN_4$, có trong một viên dựa vào các diện tích pic tương ứng thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{12}H_{14}N_4O_4S$ và $C_{12}H_{13}ClN_4$ của sulfadoxin và pyrimethamin chuẩn tương ứng.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

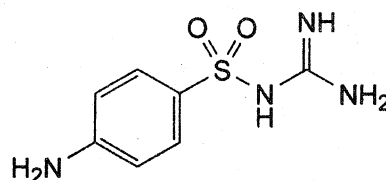
Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

Sulfadoxin 500 mg và pyrimethamin 25 mg.

SULFAGUANIDIN

Sulfaguanidinum



$C_7H_{10}N_4O_2S$

P.t.l: 214,2

Sulfaguanidin là (4-aminophenylsulfonyl)guanidin, chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_7H_{10}N_4O_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh mịn màu trắng hoặc gần như trắng. Rất khó tan trong nước và ethanol 96 %, khó tan trong aceton, thực tế không tan trong methylen clorid, tan trong dung dịch acid vô cơ loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của sulfaguanidin chuẩn.

B. Nhiệt độ nóng chảy từ 189 °C đến 193 °C (Phụ lục 6.7), dùng chế phẩm đã sấy khô.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng ở phần thử tạp chất liên quan. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.

D. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 10 ml dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT). Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với nước. Dung dịch thu được, không cần acid hóa, cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

E. Lắc 0,1 g chế phẩm với 2 ml nước để tạo dung dịch treo, thêm 1 ml dung dịch 1-naphthol (TT) và 2 ml hỗn hợp đồng thể tích nước và dung dịch natri hypochlorid mạnh (TT). Màu đỏ tạo thành.

Giới hạn acid

Dung dịch S: Lắc 2,5 g chế phẩm trong 40 ml nước không có carbon dioxyd (TT), đun nóng ở 70 °C trong 5 phút. Làm lạnh bằng cách nhúng trong nước đá trong 15 phút. Lọc, pha loãng dịch lọc thành 50 ml với nước không có carbon dioxyd (TT).

Hút 20 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml dung dịch xanh bromothymol (TT), không được dùng quá 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD) để làm chuyển màu của chỉ thị.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Acid formic khan - methanol - methylen clorid (10 : 20 : 70).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml acetone (TT).

Dung dịch thử (2): Pha loãng 2 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với acetone (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg sulfaguanidin chuẩn trong 5 ml acetone (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch thử (2) thành 200 ml với acetone (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10 ml với acetone (TT).

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10 mg sulfanilamid chuẩn trong 5 ml dung dịch thử (2).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử (1): bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %) và chỉ được phép có một vết phụ đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (3) (0,25 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (4) tách ra hai vết rõ ràng.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành theo phương pháp 6. Dùng dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,175 g chế phẩm trong 50 ml dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT). Thêm 3 g kali bromid (TT), làm lạnh dung dịch trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ), xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

1 ml dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ) tương đương với 21,42 mg $C_7H_{10}N_4O_2S$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN SULFAGUANIDIN

Tabellae Sulfaguanidini

Là viên nén chứa sulfaguanidin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng sulfaguanidin, $C_7H_{10}N_4O_2S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,2 g sulfaguanidin, thêm 5 ml dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT), đun sôi, sẽ có hơi amoniac bay lên.

B. Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg sulfaguanidin, thêm 2 ml dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT), lắc kỹ, lọc. Làm lạnh dịch lọc trong nước đá, thêm 4 ml dung dịch natri nitrit 1 % (TT), lắc đều. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml dung dịch 2-naphtol trong kiềm (TT) sẽ xuất hiện tủa đỏ thẫm.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dicloromethan - methanol - acid formic khan (70 : 20 : 10)

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg sulfaguanidin chuẩn trong 5 ml acetone (TT).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương đương với 20 mg sulfaguanidin, thêm 10 ml acetone (TT), lắc kỹ, lọc, dùng dịch lọc để chấm sắc ký.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,200 g sulfaguanidin, thêm 15 ml dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT) và 50 ml nước. Lắc kỹ. Tiến hành chuẩn độ bằng nitrit (Phụ lục 10.4).

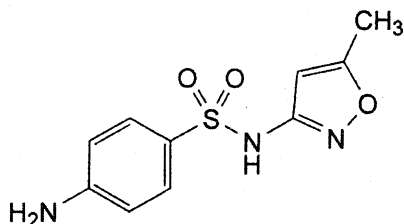
1 ml dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ) tương đương với 21,42 mg $C_7H_{10}N_4O_2S$.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng

500 mg.

SULFAMETHOXAZOL**Sulfamethoxazolum**C₁₀H₁₁N₃O₃S

P.t.l: 253,3

Sulfamethoxazol là 4-amino-N-(5-methylisoxazol-3-yl)benzensulfonamid, chứa từ 99,0 % đến 101,0 % C₁₀H₁₁N₃O₃S, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong acetone, hơi tan trong ethanol 96 %, tan trong dung dịch natri hydroxyd loãng và dung dịch acid loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của sulfamethoxazol chuẩn.

B. Nhiệt độ nóng chảy từ 169 °C đến 172 °C (Phụ lục 6.7).

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 10 % - nước - nitromethan - dioxan (3 : 5 : 41 : 51).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 5 ml hỗn hợp amoniac - methanol (2 : 48).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg sulfamethoxazol chuẩn trong 5 ml hỗn hợp amoniac - methanol (2 : 48)

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Sấy khô bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử phải cho vết chính tương ứng với vết chính của dung dịch đối chiếu về vị trí và kích thước.

D. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 10 ml dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT). Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 10 ml bằng nước. Dung dịch thu được, không cần acid hóa, cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT). Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung

dịch màu mẫu V₅; VN₅ hoặc VL₅ (Phụ lục 9.3; phương pháp 2).

Giới hạn acid

Lắc 1,25 g chế phẩm đã nghiền mịn với 25 ml nước, đun nóng 70 °C trong 5 phút. Làm nguội trong nước đá 15 phút và lọc. Hút 20 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml dung dịch xanh bromothymol (TT), không được dùng quá 0,3 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ) để làm chuyển màu của chỉ thị.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp methanol - dung dịch kali dihydrophosphat 0,1 M (35 : 65), điều chỉnh pH đến 6,0 bằng dung dịch kali hydroxyd 10 % (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 45 ml pha động, siêu âm ở 45 °C trong 10 phút. Để nguội và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg chế phẩm và 5 mg tạp chất chuẩn A của sulfamethoxazol trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg tạp chất chuẩn F của sulfamethoxazol trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm). Nhiệt độ cột 30 °C.

Tốc độ dòng: 0,9 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 210 nm.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với các dung dịch đối chiếu và dung dịch thử với thời gian rửa giải gấp ba lần thời gian lưu của sulfamethoxazol.

Thời gian lưu tương đối so với sulfamethoxazol (thời gian lưu khoảng 10 phút) là: tạp chất D khoảng 0,3; tạp chất E khoảng 0,35; tạp chất F khoảng 0,45; tạp chất C khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 1,2 và tạp chất B khoảng 2,0.

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2): hệ số phân giải giữa pic tương ứng với sulfamethoxazol và tạp chất A không được nhỏ hơn 3,5.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích các pic tương ứng với các tạp chất A, B, C, D và E không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %). Diện tích pic tương ứng với tạp chất F không được lớn hơn pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %). diện tích các tạp chất khác không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Tổng diện tích các pic tạp không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,25 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,025 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: *N*-[4-[(5-methylisoxazol-3-yl)sulphamoyl]phenyl]acetamid

Tạp chất B: 4-[[[(4-aminophenyl)sulphonyl]amino]-*N*-(5-methylisoxazol-3-yl)benzensulphonamid

Tạp chất C: 5-methylisoxazol-3-amin

Tạp chất D: acid 4-aminobenzenesulphonic (acid sulphanilic)

Tạp chất E: 4-aminobenzenesulphonamid (sulphanilamid)

Tạp chất F: 4-amino-*N*-(3-methylisoxazol-5-yl)benzenesulphonamid.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 50 ml *dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT)* và 50 ml nước. Thêm 3 g kali bromid (TT), làm lạnh dung dịch trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 25,33 mg $C_{10}H_{11}N_3O_3S$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Thuốc bột pha hỗn dịch uống trẻ em co-trimoxazol, viên nén co-trimoxazol.

VIÊN NÉN SULFAMETHOXAZOL

Tabellae Sulfamethoxazoli

Là viên nén chứa sulfamethoxazol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng sulfamethoxazol, $C_{10}H_{11}N_3O_3S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương đương với 100 mg sulfamethoxazol, thêm 2 ml *dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT)* lắc mạnh, lọc, làm lạnh dịch lọc trong nước đá, thêm 0,2 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*, sau 1 đến 2 phút, thêm 1 ml *dung dịch 2-naphthol trong kiềm (TT)* sẽ hiện màu và tua đỏ thẫm.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - dime-thylformamid (20 : 2 : 1), hoặc cloroform - methanol (19 : 1).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch sulfamethoxazol 2 % trong methanol (TT).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương đương với 0,4 g sulfamethoxazol hòa tan trong 20 ml methanol (TT) rồi lọc, dùng dịch lọc để chấm sắc ký.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

(Nếu dùng bản mỏng silica gel G thì phát hiện vết bằng thuốc thử Dragendorff).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay

Môi trường: 900 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)*

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 30 min.

Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 265 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tiến hành đo song song với dung dịch sulfamethoxazol chuẩn pha trong *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)* có nồng độ tương đương dung dịch thử.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % lượng sulfamethoxazol, $C_{10}H_{11}N_3O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột

viên tương ứng với khoảng 0,300 g sulfamethoxazol, hòa tan trong 20 ml *dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT)*, thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh trong nước đá rồi tiến hành chuẩn độ bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* (Phụ lục 10.4), phát hiện điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế với cặp điện cực platin-calomel (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 25,33 mg $C_{10}H_{11}N_3O_3S$.

Bảo quản

Đựng trong chai lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

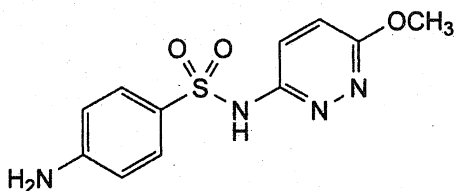
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

500 mg.

SULFAMETHOXYPYRIDAZIN

Sulfamethoxypyridazinum



$C_{11}H_{12}N_4O_3S$

P.t.l: 280,3

Sulfamethoxypyridazin là 4-amino-N-(6-methoxypyridazin-3-yl)benzensulfonamid, chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{11}H_{12}N_4O_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc hơi vàng, ngả màu dần dần khi tiếp xúc với ánh sáng. Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong aceton, khó tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong methylen clorid. Tan trong dung dịch kiềm hydroxyd loãng và trong dung dịch acid vô cơ loãng.

Nhiệt độ nóng chảy khoảng 180 °C, kèm phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của sulfamethoxypyridazin chuẩn.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng ở phần thử tạp chất liên quan. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.

D. Hòa tan khoảng 0,5 g chế phẩm trong 1 ml *dung dịch acid sulfuric 40 % (tt/tt)*, đun nóng nhẹ. Đun nóng cho đến khi tủa kết tinh xuất hiện (khoảng 2

phút). Làm nguội, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Tiếp tục làm nguội, thêm 25 ml *ether (TT)* và lắc trong 5 phút. Gạn lấy lớp ether, làm khô bằng *natri sulfat khan (TT)*, lọc. Bay hơi ether đến khô trên cách thủy. Cặn có dạng dầu, chuyển thành tinh thể khi làm lạnh, cọ thành ống nghiệm bằng đũa thủy tinh nếu cần. Nhiệt độ nóng chảy của tủa (Phụ lục 6.7) từ 102 °C đến 106 °C.

E. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với *nước*. Dung dịch thu được, không cần acid hóa, cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 15 ml *nước*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V₄ hoặc VN₄ (Phụ lục 9.3; phương pháp 2).

Giới hạn acid

Lấy 1,25 g chế phẩm đã nghiền mịn, thêm 25 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, đun nóng 70 °C trong 5 phút. Làm lạnh trong nước đá khoảng 15 phút và lọc. Hút 20 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*, không được dùng quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* để làm chuyển màu của chỉ thị.

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,5 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac loãng - nước - 2-propanol - ethyl acetat (1 : 9 : 30 : 50).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 5 ml *aceton (TT)*.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với *aceton (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg sulfamethoxypyridazin chuẩn trong 10 ml *aceton (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng *aceton (TT)*.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Sấy khô bản mỏng nhiệt độ 100 °C đến 105 °C và kiểm tra bản mỏng dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử (1), bắt kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm và thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh dung dịch trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 28,03 mg $C_{11}H_{12}N_4O_3S$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

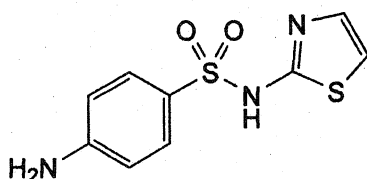
Kháng sinh.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

SULFATHIAZOL

Sulfathiazolum



$C_9H_9N_3O_2S_2$

P.t.l: 255,3

Sulfathiazol là 4-amino-N-(thiazol-2-yl)benzenesulfonamid, chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_9H_9N_3O_2S_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc hơi vàng. Thực tế không tan trong nước và methylen clorid, khó tan trong ethanol 96 %, tan trong dung dịch kiềm hydroxyd loãng và trong dung dịch acid vô cơ loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của sulfathiazol chuẩn. Nếu có sự khác biệt, hòa tan chế phẩm và chất đối

chiếu riêng biệt trong *ethanol 96 % (TT)*, bay hơi đến khô trong chân không, đo phổ hồng ngoại của cặn.

B. Nhiệt độ nóng chảy ở 200 °C đến 203 °C (Phụ lục 6.7). Hiện tượng nóng chảy có thể xuất hiện vào khoảng 175 °C sau đó lại đông đặc, quá trình nóng chảy thứ hai tại 200 °C đến 203 °C.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng ở phần thử tạp chất liên quan. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước.

D. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 nước và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*. Thêm 0,5 ml *dung dịch đồng (II) sulfat 12,5 % (TT)*. Kết tủa màu xanh xám hoặc đỏ tía tạo thành.

E. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với *nước*. Dung dịch thu được, không cần acid hóa, cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VL₅ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Lấy 1,0 g chế phẩm, thêm 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lắc đều. Đun nóng ở 70 °C trong 5 phút. Làm nguội nhanh đến 20 °C và lọc. Hút 25 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*, không được dùng quá 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* để làm chuyển màu của chỉ thị.

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,5 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel H.

Dung môi khai triển: Amoniac - butanol (18 : 90).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong hỗn hợp *amoniac - ethanol 96 % (1 : 9)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hút 1 ml dung dịch thử (1) pha loãng thành 5 ml với hỗn hợp *amoniac - ethanol 96 % (1 : 9)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg sulfathiazol chuẩn trong hỗn hợp *amoniac - ethanol 96 % (1 : 9)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50 mg sulfanilamid chuẩn trong hỗn hợp *amoniac - ethanol 96 % (1 : 9)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với cùng dung môi trên.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được

khoảng 15 cm. Sấy khô bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 10 phút. Phun bản mỏng với *dung dịch dimethylaminobenzaldehyd 0,1 % trong ethanol 96 %* có chứa 1 % (tt/tt) *acid hydrochloric (TT)*. Trên sắc ký đồ *dung dịch thử (1)*, bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính thu được từ *dung dịch đối chiếu (2)*.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 50 ml *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)*. Thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh *dung dịch* trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 25,53 mg $C_9H_9N_3O_2S_2$.

Bảo quản

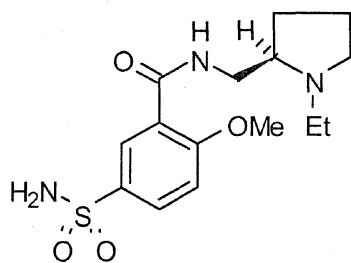
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

SULPIRID

Sulpiridum



và đồng phân đối quang

$C_{15}H_{23}N_3O_4S$

P.t.l.: 341,4

Sulpirid là (RS)-N-[(1-ethylpyrrolidin-2-yl)methyl]-2-methoxy-5-sulphamoylbenzamid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{15}H_{23}N_3O_4S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong methanol, khó tan

trong ethanol 96 % và trong methylen clorid, tan trong các *dung dịch acid vô cơ loãng* và *kiềm hydroxyd loãng*.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: A, C, D.

A. Điểm chảy: 177 °C đến 181 °C (Phụ lục 6.7).

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của sulpirid chuẩn.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng: Quan sát bản mỏng thu được ở phần thử tạp chất liên quan dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm trước khi đặt vào bình bão hòa hơi iod. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của *dung dịch thử (2)* phải có vị trí và kích thước giống với vết trên sắc ký đồ thu được của *dung dịch đối chiếu (1)*.

D. Lấy khoảng 1 mg chế phẩm vào chén sứ, thêm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)* và 0,05 ml *formaldehyd (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, *dung dịch* có huỳnh quang xanh lam.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng cùng *dung môi*. *Dung dịch* thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu mẫu V₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Butanol - nước - acid acetic khan (4 : 2 : 1).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,050 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng *dung môi*.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 2 ml *dung dịch thử (1)* thành 5 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg sulpirid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng cùng *dung môi*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml *dung dịch thử (1)* thành 100 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng tiếp 5 ml *dung dịch* thu được thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi *dung dịch* trên. Triển khai sắc ký đến khi *dung môi* đi được 10 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của *dung dịch thử (1)*, bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được đậm màu hơn màu của vết trên sắc ký đồ của *dung dịch đối chiếu (2)*. Để bản mỏng vào

bình bão hòa hơi iod trong 30 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được đậm màu hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Clorid

Không được quá 0,010 % (Phụ lục 9.4.5).

Lắc 1,0 g chế phẩm với 20 ml nước. Lọc qua phễu lọc xốp số 4. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 5 ml nước để thử.

Sắt

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Nung 1,0 g chế phẩm trong chén sứ. Cho vào chén thu được 1 ml dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT), 3 ml nước và 0,1 ml acid nitric (TT). Đun nóng trên cách thủy vài phút. Chuyển dung dịch thu được vào ống nghiệm, tráng chén sứ bằng 4 ml nước. Tập trung nước rửa vào ống nghiệm và thêm nước vừa đủ 10 ml để thử.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 1 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 80 ml acid acetic khan (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD) tương đương với 34,14 mg $C_{15}H_{23}N_3O_4S$.

Bảo quản

Đựng trong đồ đựng kín.

Loại thuốc

Thuốc chống loạn thần.

Chế phẩm

Viên nén.

NANG SULPIRID

Capsulae Sulpiridi

Là nang cứng chứa sulpirid

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng sulpirid, $C_{15}H_{23}N_3O_4S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang cứng nhẵn bóng, không méo mó, bột thuốc bên trong đồng nhất.

Định tính

Hòa tan một lượng bột thuốc trong nang tương đương 0,2 g sulpirid trong 20 ml methanol (TT), lắc 5 phút, lọc và bay hơi dịch lọc đến khô. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của sản phẩm phù hợp với phổ hồng ngoại của sulpirid chuẩn.

Độ hòa tan

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ dịch lọc đầu.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 55,0 mg sulpirid chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT), lắc để hòa tan hoàn toàn, thêm dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) đến định mức, lắc đều. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch này cho vào bình định mức 50 ml, thêm dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 291 nm ± 1 nm. Dùng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng sulpirid, $C_{15}H_{23}N_3O_4S$, hòa tan từ viên dựa vào các độ hấp thụ đo được và nồng độ $C_{15}H_{23}N_3O_4S$ của dung dịch sulpirid chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % lượng sulpirid, $C_{15}H_{23}N_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 0,1 g sulpirid, hòa tan trong khoảng 50 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT), siêu âm 5 phút, thêm cùng dung môi cho đủ 100,0 ml, trộn đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 0,1 g sulpirid chuẩn, hòa tan trong khoảng 50 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT), siêu âm 5 phút, thêm cùng dung môi cho đủ 100,0 ml, trộn đều. Pha loãng 5,0 ml dịch này thành 100,0 ml bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT).

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 291 nm, dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng sulpirid, $C_{15}H_{23}N_3O_4S$, dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng $C_{15}H_{23}N_3O_4S$ của sulpirid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, để nơi khô mát.

Loại thuốc

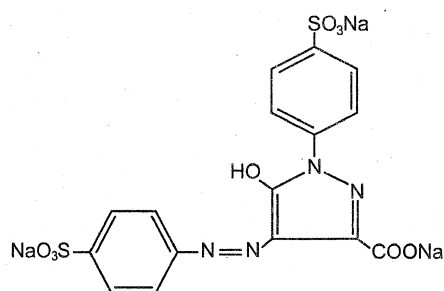
Thuốc chống loạn thần.

Hàm lượng thường dùng

50 mg.

TARTRAZIN

Tartrazinum



$C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$

P.t.l: 534,4

Tartrazin là trinatri hydroxy-5-(sulfonato-4-phenyl)-1-[(sulfonato-4-phenyl)azo]-4-1H-pyrazolcarboxylat-3, phải chứa ít nhất 85,0 % $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu vàng cam sẫm. Dễ tan trong nước, ít tan trong ethanol, gần như không tan trong aceton và methylen clorid. Dung dịch 0,1 % (kl/tt) có màu vàng tươi.

Định tính

A. Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 100 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)*. Phổ hấp thụ từ ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng 230 nm đến 550 nm có hai hấp thụ cực đại ở $256 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ và $430 \text{ nm} \pm 3 \text{ nm}$.

Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 100 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)*. Phổ hấp thụ từ ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng 230 nm đến 550 nm có hai hấp thụ cực đại ở $260 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ và $396 \text{ nm} \pm 3 \text{ nm}$.

B. Trong phần Chất màu liên quan, vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước.

Độ trong của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 50 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2).

Chất màu liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - nước - ethanol - n-butanol (10 : 25 : 25 : 50).

Dung môi hòa tan: Hỗn hợp nước - methanol (1 : 1).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 40 mg chế phẩm trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 2 ml dung dịch thử (1) thành 10 bằng dung môi hòa tan.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40 mg tartrazin chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20 ml bằng dung môi hòa tan.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày.

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1), ngoài vết chính ra, không được có vết nào đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2).

Chất chiết được bằng ether

Không được quá 0,5 %.

Cân chính xác 2,0 g chế phẩm (đã sấy trong chân không ở nhiệt độ 60°C tới khối lượng không đổi) vào bình định mức nâu 200 ml, thêm ether khan (TT) vừa đủ đến vạch. Lắc cơ học trong 30 phút, lọc. Lấy 100,0 ml dịch lọc, cho bay hơi đến khô trong chân không ở nhiệt độ 20°C . Làm khô cặn trong bình hút ẩm tới khối lượng không đổi. Khối lượng cặn thu được không được quá 5 mg.

Chất không tan trong nước

Không được quá 0,2 %.

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 200 ml nước bằng cách đun nóng tới khoảng 90°C . Để nguội, lọc qua phễu thủy tinh xóp số 4 đã được sấy khô ở 100°C đến 105°C tới khối lượng không đổi. Rửa cặn thu được với nước cho đến khi thu được dịch lọc không màu. Sấy cặn ở 100°C đến 105°C tới khối lượng không đổi. Khối lượng cặn thu được không được quá 4 mg.

Amin thơm bậc nhất

Không được quá 40 phần triệu.

Hòa tan cặn thu được ở phần Chất chiết được bằng ether trong 10 ml toluen (TT). Lấy 2,5 ml dung dịch thu được, thêm 6 ml nước và 4 ml *dung dịch acid*

hydrochloric 0,1 N (TT). Lắc mạnh, để yên cho tách lớp, loại bỏ lớp hữu cơ. Thêm vào pha nước 0,4 ml *dung dịch natri nitrit 0,25 %* mới pha. Lắc đều và để yên 1 phút. Thêm 0,8 ml *dung dịch amoni sulfamat 0,5 %* và để yên 1 phút. Thêm 2 ml *dung dịch N-(1-naphthyl)-ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT)*. Để yên 1 giờ. Dung dịch không được đậm màu hơn dung dịch đối chiếu được chuẩn bị bằng cách thay pha nước bằng hỗn hợp 1 ml *dung dịch naphthylamin 0,001 % (TT)*, 5 ml nước và 4 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (TT)*.

Crom hòa tan

Không được quá 50 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 25 ml nước bằng cách đun nóng tới khoảng 90 °C. Để nguội, thêm nước vừa đủ 25 ml, lọc qua phễu thủy tinh xếp số 4.

Các dung dịch chuẩn: Dùng *dung dịch crom mẫu 100 phần triệu (TT)* pha các dung dịch chuẩn 0,5 phần triệu, 1 phần triệu và 2 phần triệu.

Cách tiến hành: Sử dụng máy hấp thụ nguyên tử có trang bị đèn cathod rỗng crom, đầu đốt sử dụng ngọn lửa acetylen - không khí nén. Đo độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở 357,9 nm. Từ độ hấp thụ đo được của các dung dịch chuẩn và dung dịch thử, tính hàm lượng crom hòa tan trong chế phẩm.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,150 g chế phẩm đã sấy trong chân không ở nhiệt độ 60 °C tới khối lượng không đổi, hòa tan trong dung dịch *amoni acetat 2 M (TT)* mới pha và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 200,0 ml bằng dung dịch *amoni acetat 2 M (TT)* mới pha. Pha dung dịch chuẩn tương tự trong cùng điều kiện, dùng khoảng 0,150 g tartrazin chuẩn đã sấy trong chân không ở nhiệt độ 60 °C tới khối lượng không đổi.

Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử có một hấp thụ cực đại ở khoảng 426 nm, không lệch quá 5 nm so với bước sóng hấp thụ cực đại của dung dịch chuẩn đo trong cùng điều kiện. Đo độ hấp thụ của hai dung dịch tại bước sóng hấp thụ cực đại.

Tính hàm lượng $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$ trong chế phẩm, dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Nhãn

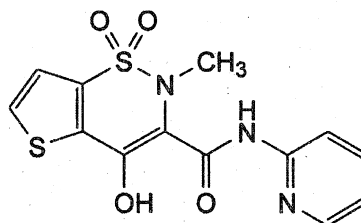
Phải qui định rõ thời hạn sử dụng và điều kiện bảo quản.

Loại thuốc

Phẩm màu.

TENOXICAM

Tenoxicamum



$C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$

P.t.l: 337,4

Tenoxicam là 4-hydroxy-2-methyl-N-(pyridin-2-yl)-2H-thieno[2,3-e]1,2-thiazin-3-carboxamid 1,1-dioxyd, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh đa hình, màu vàng. Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong methylen clorid, rất ít tan trong ethanol, tan trong dung dịch acid và dung dịch kiềm.

Định tính

Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của tenoxicam chuẩn. Nếu phổ đo được ở trạng thái rắn có sự khác biệt thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong một lượng nhỏ *methylen clorid (TT)*, bay hơi trên cách thủy đến khô, ghi phổ cần thu được.

Độ trong của dung dịch

Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 20 ml *methylen clorid (TT)*, dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Acid formic khan - methanol - acetone - methylen clorid (5 : 5 : 20 : 70).

Dung môi hòa tan: Hỗn hợp amoniac đậm đặc - methanol (4 : 96).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,4 g chế phẩm trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 20 ml bằng dung môi hòa tan. Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg tenoxicam chuẩn và 20 mg acid salicylic chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20 mg pyridin-2-amin (TT) trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi, pha loãng 2 ml dung dịch này thành 50 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trong sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết nào tương ứng với pyridin-2-amin không được đậm màu hơn vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %). Bất kỳ vết phụ nào khác, trừ vết chính và vết tương ứng với pyridin 2-amin trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,25 %). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 2 vết tách rõ ràng.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 5 ml *dung dịch chỉ mẫu 2 phần triệu (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,000 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong 5 ml *acid formic khan (TT)*. Thêm 70 ml *acid acetic khan (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 33,74 mg $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Giảm đau, kháng viêm.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN TENOXICAM

Tabellae Tenoxicami

Là viên nén chứa tenoxicam.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng tenoxicam, $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$, từ 92,5 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu vàng nhạt, cạnh và thành viên lành lặn.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel F_{254} .

Dung môi triển khai: Acid formic khan - aceton - dicloromethan (4 : 30 : 70).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên đã nghiền mịn có chứa khoảng 20 mg tenoxicam, thêm 20 ml dicloromethan (TT), lắc siêu âm 15 phút, ly tâm và sử dụng phần dung dịch phía trên.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch tenoxicam chuẩn 0,1 % trong dicloromethan (TT).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí, màu sắc và kích thước phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với pic tenoxicam trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch đệm phosphat pH 6,8*.

Dung dịch đệm phosphat pH 6,8: Hòa tan 6,8 g kali dihydrophosphat (TT) trong 500 ml nước, thêm 23 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, pha loãng thành 1000 ml với nước và điều chỉnh đến pH 6,8 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* hoặc *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc (nếu cần) với môi trường hòa tan để có nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 368 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch tenoxicam chuẩn có nồng độ tương đương, pha trong môi trường hòa tan. Tính lượng tenoxicam, $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$, được hòa tan dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng của $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$ trong tenoxicam chuẩn.

Yêu cầu: Không dưới 70 % lượng tenoxicam so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 0,12 g *natri lauryl sulfat* (TT) trong 700 ml *methanol* (TT), trộn với 1000 ml dung dịch *kali dihydrophosphat* 0,05 M (TT) và điều chỉnh đến pH 2,8 bằng *acid phosphoric* (TT).

Dung dịch thử: Lắc một lượng viên chứa khoảng 0,1 g tenoxicam với 100 ml *acetonitril* 50 % trong 70 phút, thỉnh thoảng lắc trong siêu âm. Để yên trong 10 phút, hút 5 ml dung dịch trong phía trên pha loãng thành 20 ml với pha động, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) nhồi pha tĩnh B (Cột Nucleosil C8, 5 μm là thích hợp) và tiền cột nhồi pha tĩnh B (10 μm).

Tốc độ dòng: 0,7 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột với pha động trong 3 giờ.

Tiến hành sắc ký lần lượt với các dung dịch trên.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, không được có bất kỳ pic phụ nào có diện tích lớn hơn pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %) và tổng diện tích của các pic phụ đó không được lớn hơn bốn lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2 %).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký thực hiện như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Dung dịch thử: Lắc 10 viên chế phẩm với 200 ml *acetonitril* 50 % trong 70 phút, thỉnh thoảng lắc trong siêu âm. Để yên trong 10 phút, pha loãng một thể tích thích hợp dung dịch trong ở phía trên với pha động để được dung dịch có nồng độ tenoxicam khoảng 0,025 % và lọc.

Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch tenoxicam chuẩn 0,1 % trong *acetonitril* 50 %. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml bằng pha động.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tenoxicam trong 6 lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng tenoxicam, $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$, trong viên dựa theo diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$ trong tenoxicam chuẩn.

Bảo quản

Trong lọ nút kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

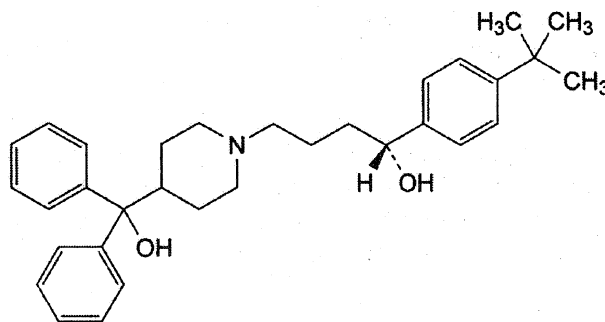
Thuốc chống viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng

10 mg, 20 mg.

TERFENADIN

Terfenadinum



và đồng phân đối quang

$C_{32}H_{41}NO_2$

P.t.l: 471,7

Terfenadin là (1*RS*)-1-[4-(1,1-dimethylethyl)phenyl]-4-[4-(hydroxydiphenylmethyl) piperidin-1-yl]butan-1-ol, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{32}H_{41}NO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh đa hình trắng. Rất ít tan trong nước và trong acid hydrocloric loãng, dễ tan trong dicloromethan, tan trong methanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của terfenadin chuẩn.

B. Điểm chảy từ 146 °C đến 152 °C (Phụ lục 6.7).

C. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng 230 nm đến 350 nm, có cực đại hấp thụ ở 259 nm và hai vai tại 253 nm và 270 nm. Giá trị A (1 %, 1 cm) tại 259 nm từ 13,5 đến 14,9.

D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel* HF₂₅₄.

Dung môi khai triển: *Methanol* - *dicloromethan* (10 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *dicloromethan* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg terfenadin chuẩn trong *dicloromethan* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài

không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Pha loãng 600 ml *acetonitril* (TT) thành 1000 ml bằng *dung dịch đệm phosphat diethylamoni pH 6,0* (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 15 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 25,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 0,1 g *kali iodid* (TT) trong pha động và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 15 mg tạp chất chuẩn A của terfenadin trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được, thêm 5,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 217 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt mỗi dung dịch trên. Tiến hành sắc ký gấp 5 lần thời gian lưu của terfenadin. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic terfenadin và pic tạp chất A lớn hơn 5,0 và hệ số dung lượng của terfenadin lớn hơn 2,0. Xác định hệ số dung lượng với thành phần không lưu giữ là kali iodid. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào, ngoài pic chính, không được lớn hơn diện tích của pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %); tổng diện tích của tất cả các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn diện tích của pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 2,5 % diện tích của pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Ghi chú:

Tạp chất A: (1-[4-(1,1-dimethylethyl)phenyl]-4-[4-(hydroxydiphenylmethyl)piperidin-1-yl]butan-1-on).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 60 °C, áp suất không quá 0,5 kPa).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong *acid acetic khan* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 47,17 mg $C_{32}H_{41}NO_2$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

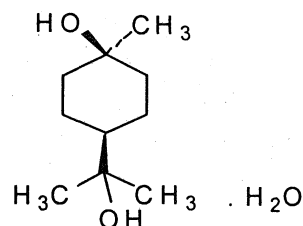
Đối kháng thụ thể histamin H_1 .

Chế phẩm

Viên nén.

TERPIN HYDRAT

Terpinum hydratum



$C_{10}H_{20}O_2 \cdot H_2O$

P.t.l: 190,3

Terpin hydrat là cyclohexan methanol, 4-hydroxy- α , α , 4-trimethyl monohydrat hay p-menthan 1, 8-diol monohydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % $C_{10}H_{20}O_2$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Tinh thể trong suốt, không màu hay bột kết tinh trắng, không mùi. Sấy cẩn thận ở 100 °C, chế phẩm sẽ thăng hoa và tạo thành những tinh thể hình kim. Để ở không khí nóng và khô, chế phẩm sẽ dần dần bị mất nước kết tinh và nhiệt độ nóng chảy giảm. Hơi tan trong nước, tan trong nước nóng và ethanol 96 %, dễ tan trong ethanol 96 % nóng, hơi tan trong ether, cloroform.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của terpin hydrat chuẩn.

B. Điểm chảy: 115 °C đến 117 °C (Phụ lục 6.7). Đun nóng dụng cụ tới 110 °C rồi mới cho ống mao quản vào và tiếp tục đun nóng với tốc độ 4 °C đến 6 °C trong 1 phút.

C. Trên sắc ký đồ thu được trong phép thử "Tập chất liên quan": Vết chính của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết của dung dịch đối chiếu (1).

D. Lấy 5 ml dung dịch chế phẩm (1/50), đun nóng rồi cho thêm vài giọt *acid sulfuric đậm đặc* (TT). Dung dịch sẽ bị vẩn đục và có mùi thơm của terpineol.

E. Nhỏ vào 0,01 g chế phẩm khoảng 5 giọt *dung dịch sắt (III) clorid trong ethanol* (TT), đem bốc hơi đến khô trong chén sứ, sẽ thấy xuất hiện cùng một lúc ở các chỗ khác nhau trong chén những màu đỏ son, tím và lục.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT), và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol* (TT). Không được dùng quá 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N* (CĐ) hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N* (CĐ) để làm chuyển màu của chỉ thị.

Tập chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - ethyl acetat* (1 : 9).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *methanol* (TT), và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,25 g *terpin hydrat chuẩn trong methanol* (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100 ml bằng *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 5 phút. Để nguội bản mỏng sau khi sấy, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric* (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết phụ nào khác với vết chính không được có màu đậm hơn màu của vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Nước

Từ 8,0 % đến 10,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,20 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan một lượng chính xác *biphenyl* trong *cloroform* (TT) để được dung dịch chứa khoảng 20 mg/ml.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 170 mg *terpin hydrat chuẩn* (ĐC), hòa tan bằng 5 ml *ethanol* 96 % (TT) trong bình định mức 100 ml, thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và thêm *cloroform* (TT) đến vạch.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 170 mg chế phẩm, tiến hành như cách chuẩn bị dung dịch chuẩn, bắt đầu từ "hòa tan bằng 5 ml...".

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ hoặc thủy tinh (1,2 m $\times$ 3,5 mm) được nhồi đất *diatomit* đã rửa *acid* đến trung tính và đã *silan hóa* (*chromosorb AW - 80 - 100 mesh*) (TT) với 6 % chất hấp phụ *dimethylpolysiloxan dùng cho sắc ký khí* (TT).

Khí mang là *nitơ* dùng cho sắc ký khí (TT) với lưu lượng cần thiết để đạt được thời gian lưu của terpin khoảng 7 phút và của biphenyl khoảng 11 phút.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ cột ở 120 °C, nhiệt độ của buồng tiêm và detector ở 260 °C.

Thể tích tiêm: 1 μ l.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch chuẩn. Độ phân giải giữa pic terpin và biphenyl không được nhỏ hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối giữa các lần tiêm nhắc lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiêm dung dịch thử. Tính hàm lượng $C_{10}H_{20}O_2$ theo tỷ lệ diện tích giữa pic của terpin và chuẩn nội có được từ sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

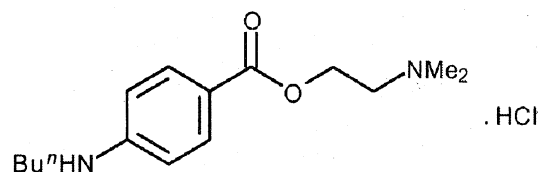
Tăng tiết dịch khí quản (long đờm).

Chế phẩm

Thường được kết hợp trong các chế phẩm trị ho như: Viên uống terpin benzoat, viên uống terpin codein.

TETRACAIN HYDROCLORID

Tetracaini hydrochloridum



$C_{15}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$

P.t.l: 300,8

Tetracain hydroclorid là 2-(dimethylamino)ethyl-4-(butylamino)benzoat hydroclorid, phải chứa từ 99,0 %

đến 101,0 % $C_{15}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, hút ẩm nhẹ. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Chảy ở khoảng 148 °C hoặc chảy ở khoảng 134 °C và 139 °C tương ứng với hai dạng tinh thể khác nhau. Hỗn hợp của các dạng này có điểm chảy trong khoảng 134 °C đến 147 °C.

¶ Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C, D.

Nhóm II: A, B, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của tetracain hydroclorid chuẩn.

B. Thêm 1 ml dung dịch *amoni thiocyanat* (TT) vào 10 ml dung dịch S, tựa kết tinh màu trắng được tạo thành. Tựa này sau khi kết tinh lại từ nước và sấy khô ở 80 °C trong hai giờ chảy ở khoảng 131 °C.

C. Thêm 0,5 ml *acid nitric bốc khói* (TT) vào 5 mg chế phẩm. Bốc hơi đến khô trên cách thủy, để nguội và hòa tan cẩn trọng 5 ml *aceton* (TT). Thêm 1 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,1 M trong ethanol* (TT), màu tím xuất hiện.

D. Dung dịch S cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

¶ Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Pha loãng 2 ml dung dịch S thành 10 ml bằng nước.

Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 10 ml bằng nước không có carbon dioxyl (TT), pH của dung dịch này phải từ 4,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,05 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄. Tiến hành triển khai bản mỏng trước trong dung môi khai triển đến khi dung môi đi được 12 cm. Lấy bản mỏng ra và sấy khô bằng luồng không khí ẩm trong vài phút. Để bản mỏng nguội trước khi dùng.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - hexan - dibutyl ether (4 : 16 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg acid 4-amino-benzoic (TT) trong nước và pha loãng thành 100 ml bằng nước. Lấy 1 ml dung dịch trên pha thành 10 ml bằng nước.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Lấy bản mỏng ra sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 10 phút. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử ngoài vết chính không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử nằm trên điểm xuất phát.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

¶ Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml ethanol 96 % (TT) và thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydroloric 0,01 M* (TT). Tiến hành định lượng theo phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2) bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (CĐ). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (CĐ) đã tiêu thụ giữa hai điểm uốn.

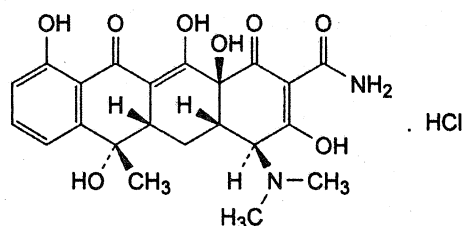
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (CĐ) tương đương với 30,08 mg $C_{15}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

TETRACYCLIN HYDROCLORID

Tetracyclini hydrochloridum



$C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$

P.t.l: 480,9

Tetracyclin hydroclorid là (4S,4aS,5aS,6S,12aS)-4-(Dimethylamino)-3,6,10,12,12a-pentahydroxy-6-methyl-

1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydrotetracen-2-carboxamid hydroclorid, phải chứa từ 95,0% đến 102,0% $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng. Tan trong nước, khó tan trong ethanol 96%, thực tế không tan trong aceton, tan trong dung dịch kiềm hydroxyd và carbonat. Dung dịch trong nước bị đục khi để yên do tạo thành kết tủa tetracyclin.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel F_{254} .

Dung môi khai triển: Acetonitril - methanol - dung dịch acid oxalic 6,3% đã được điều chỉnh pH đến 2,0 bằng amoniac (20 : 20 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 5 mg chế phẩm trong 10 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg tetracyclin hydroclorid chuẩn trong 10 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg tetracyclin hydroclorid chuẩn, 5 mg demeclocyclin hydroclorid chuẩn và 5 mg oxytetracyclin hydroclorid chuẩn trong 10 ml methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng $\frac{3}{4}$ chiều dài bản mỏng. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ dung dịch thử phải tương ứng với vết chính của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho ba vết tách ra rõ ràng.

B. Thêm 5 ml acid sulfuric (TT) vào khoảng 2 mg chế phẩm, màu đỏ tím tạo thành. Thêm 2,5 ml nước, dung dịch chuyển sang màu vàng.

C. Chế phẩm cho phản ứng định tính (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml nước không có carbon dioxyd (TT), pH của dung dịch phải từ 1,8 đến 2,8 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Phải từ -240° đến -255° tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Cân 80,0 g *tert*-butanol (TT) vào 1 cốc có mỏ, chuyển vào bình định mức dung tích 1000 ml, tráng cốc với 200 ml nước. Thêm 100 ml dung dịch dikali hydrophosphat 3,5% đã được điều chỉnh pH đến 9,0 với dung dịch acid phosphoric 2 M (TT); 200 ml dung dịch tetrabutylamonii hydrosulfat 1,0% đã được điều chỉnh pH đến 9,0 với dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT) và 10 ml dung dịch natri edetat 4,0 % đã được điều chỉnh pH đến 9,0 với dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT). Thêm nước vừa đủ 1000,0 ml, lọc và đuổi khí.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg tetracyclin hydroclorid chuẩn trong dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT), pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 15,0 mg 4-epitetracyclin hydroclorid chuẩn trong dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10,0 mg anhydrotetracyclin hydroclorid chuẩn trong dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10,0 mg 4-epianhydrotetracyclin hydroclorid chuẩn trong dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (5): Trộn 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1); 2,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (4), pha loãng thành 25,0 ml với dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).

Dung dịch đối chiếu (6): Trộn 20,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và 10,0 ml dung dịch đối chiếu (3) và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (4), pha loãng thành 200,0 ml với dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).

Dung dịch đối chiếu (7): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 50,0 ml với dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là styren-divinylbenzen copolymer (8 μ m). Nhiệt độ cột 60 $^\circ$ C.

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (5), dung dịch đối chiếu (6) và dung dịch đối chiếu (7).

Độ thích hợp hệ thống:

Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5), hệ số phân giải giữa pic của tạp chất A (4-epitetracyclin, pic

thứ nhất) và tetracyclin (pic thứ hai) ít nhất phải bằng 2,5; hệ số phân giải giữa pic tetracyclin và pic của tạp chất D (4-epianhydrotetracyclin, pic thứ ba) ít nhất phải bằng 8,0. Điều chỉnh nồng độ của tert-butanol trong pha động nếu cần thiết.

Tỷ số tín hiệu/độ nhiễu: ít nhất phải bằng 3 đối với pic chính của dung dịch đối chiếu (7).

Hệ số đối xứng: không được lớn hơn 1,25 đối với pic của tetracyclin trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (5).

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Diện tích pic của tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic của tạp chất A trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (6) (3,0%)

Diện tích pic của tạp chất B (nằm ở đuôi của pic chính) không được lớn hơn một nửa diện tích pic của tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (1,5%).

Diện tích của pic tương ứng với tạp chất C (anhydrotetracycline) không được lớn hơn diện tích pic của tạp chất C trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (6) (0,5%).

Diện tích của pic tương ứng với tạp chất D không được lớn hơn diện tích pic của tạp chất D trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (0,5%).

Kim loại nặng

Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2,5 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 2,0% (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 60 °C, phosphor pentoxyl, áp suất không quá 670 Pa, 3 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,5% (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Phải ít hơn 0,5 EU/mg (Phụ lục 13.2), nếu chế phẩm dùng để pha thuốc tiêm mà không áp dụng các biện pháp loại bỏ nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng với các điều kiện sắc ký giống như phần thử tạp chất liên quan. Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Tính hàm lượng tetracyclin hydroclorid ($C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$) dựa vào diện tích pic và nồng độ dung dịch đối chiếu.

Bảo quản

Tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong bao bì vô khuẩn.

Nhãn

Phải ghi rõ nếu chế phẩm không có nội độc tố vi khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nang, viên nén.

NANG TETRACYCLIN HYDROCLORID

Capsulae Tetracyclini hydrocloridi

Là nang cứng chứa tetracyclin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng của tetracyclin hydroclorid,

$C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang có màu đồng nhất, mặt nang nhẵn bóng, không méo mó, bột thuốc bên trong có màu vàng đồng nhất.

Định tính

Trong phần định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic tetracyclin hydroclorid trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 4,0 % (Phụ lục 9.6).

(Dùng 0,1 g bột thuốc trong nang ở 60 °C, dưới áp suất không quá 5 mm thủy ngân, trong 3 giờ).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy. Giữ cho khoảng cách giữa cánh khuấy và đáy bình là (45 ± 5) mm.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 60 phút đối với viên dưới 500 mg, 90 phút đối với viên từ 500 mg trở lên.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan chế phẩm, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ thích hợp nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được ở bước sóng cực đại 276 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch môi trường hòa tan làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch tetracyclin hydroclorid chuẩn có nồng độ tương đương với dung dịch thử pha trong môi trường hòa tan. Tính ra lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$, được hòa tan từ nang dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng của $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ trong tetracyclin hydroclorid chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80,0 % lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong thời gian thử quy định.

Giới hạn 4-epianhydrotetracyclin

Không được quá 3,0 %.

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung môi pha loãng và điều kiện sắc ký thực hiện như mô tả trong phần Định lượng.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chất chuẩn 4-epianhydrotetracyclin hydroclorid trong dung môi pha loãng để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 15 µg/ml.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn trên và so sánh với sắc ký đồ của dung dịch thử ở phần Định lượng.

Tính hàm lượng % của 4-epianhydrotetracyclin so với lượng tetracyclin hydroclorid có trong nang dựa vào diện tích pic 4-epianhydrotetracyclin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ 4-epianhydrotetracyclin của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch amoni oxalat 0,1 M - dimethylformamid - dung dịch diamoni hydrophosphat 0,2 M (68 : 27 : 5). Điều chỉnh pH của hỗn hợp từ 7,6 đến 7,7 bằng dung dịch amoni hydroxyd 3 M (TT) hoặc dung dịch acid phosphoric 3 M.

Dung môi pha loãng: Dung dịch amoni oxalat 0,1 M - dimethylformamid (68 : 27).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng đã cân chính xác chất chuẩn tetracyclin hydroclorid với dung môi pha loãng và pha loãng từng bước với cùng dung môi để thu được dung dịch có chứa khoảng 0,5 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg tetracyclin hydroclorid chuyển vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng 50 ml dung môi pha loãng, trộn đều và lắc siêu âm trong khoảng 5 phút. Để nguội, pha loãng tới định mức với dung môi pha loãng và lọc.

Dung dịch phân giải: Chuẩn bị một dung dịch trong dung môi pha loãng có chứa 100 µg tetracyclin hydroclorid chuẩn và 25 µg chất chuẩn 4-epianhydrotetracyclin trong 1 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột bảo vệ (tiền cột): cột thép không gỉ (3 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh B (10 µm).

Cột phân tích: cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh B (5 µm đến 10 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành :

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của 4-epianhydrotetracyclin là 0,9 và tetracyclin là 1,0, hệ số phân giải giữa pic 4-epianhydrotetracyclin và tetracyclin là không dưới 1,2.

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tetracyclin hydroclorid trong 6 lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$, trong nang dựa vào các diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ trong tetracyclin hydroclorid chuẩn

Bảo quản

Ép vi hoặc đựng trong chai lọ kín, để nơi khô, mát và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg (250 000 IU); 500 mg (500 000 IU).

THUỐC MỠ TRA MẮT TETRACYCLIN HYDROCLORID

Unguentum Tetracyclini hydrochloridi

Là thuốc mỡ dùng tra mắt, chứa tetracyclin hydroclorid với tá dược thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc” mục “Thuốc mỡ tra mắt” (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$, từ 90,0 % đến 125,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Thuốc mỡ màu vàng nhạt đồng nhất, có độ mềm thích hợp, dính được vào niêm mạc và da khi bôi, không tách lớp ở điều kiện bình thường, không chảy lỏng ở 37 °C.

Định tính

A. Lấy khoảng 5 g chế phẩm vào cốc có mỏ, thêm khoảng 5 ml nước, đun cách thủy cho tan hết tá dược, khuấy đều bằng một thìa thủy tinh. Để nguội và làm lạnh trong nước đá để cho lớp tá dược đông lại. Gạn lấy lớp nước (dung dịch A) để thử các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dung dịch A cho vào một bát sứ, bốc hơi trên cách thủy cho tới khô. Thêm 1 giọt đến 2 giọt acid sulfuric đậm đặc (TT) sẽ có màu đỏ tím. Thêm 1 giọt dung dịch sắt (III) clorid 3 % (TT), màu sẽ chuyển thành nâu hoặc đỏ nâu.

Lấy 2 ml dung dịch A cho vào một ống nghiệm, thêm 1 giọt *dung dịch acid nitric 32 % (TT)* và vài giọt *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*, sẽ xuất hiện tủa trắng.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương đương với thời gian lưu của pic tetracyclin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: Dung dịch amoni oxalat 0,1 M - dimethylformamid - dung dịch diamoni hydrophosphat 0,2 M (68 : 27 : 5). Điều chỉnh pH của hỗn hợp từ 7,6 đến 7,7 bằng *dung dịch amoni hydroxyd 3 M (TT)* hoặc *dung dịch acid phosphoric 3 M*.

Dung môi pha loãng: Dung dịch amoni oxalat 0,1 M - dimethylformamid (68 : 27).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng tetracyclin hydroclorid chuẩn, hòa tan trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml. Pha loãng 6,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng dung môi pha loãng. Trộn đều.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm tương đương khoảng 0,3 g tetracyclin hydroclorid, cho vào một bình nón nút mài dung tích 100 ml, thêm 20 ml *cyclohexan (TT)*, lắc kỹ. Tiếp tục thêm 35 ml *methanol (TT)*, siêu âm trong 20 phút. Gạn, lọc dung dịch vào một bình định mức 100 ml. Tráng bình nón với 40 ml *methanol (TT)*, lọc vào bình định mức, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *dung môi pha loãng*. Trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột bảo vệ (tiền cột): cột thép không gỉ (3 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh B (10 μm).

Cột phân tích: cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh B (5 μm đến 10 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tetracyclin hydroclorid trong 6 lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$, trong chế phẩm thử dựa vào các diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ trong tetracyclin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

1 %.

VIÊN NÉN TETRACYCLIN HYDROCLORID

Tabellae Tetracyclini hydrocloridi

Là viên nén chứa tetracyclin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng của tetracyclin hydroclorid,

$C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu vàng.

Định tính

Trong phần định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được với dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic tetracyclin hydroclorid trên sắc ký đồ thu được với dung dịch chuẩn.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 4,0 % (Phụ lục 9.6).

(Dùng 0,100 g bột viên ở 60 °C, dưới áp suất không quá 5 mm thủy ngân trong 3 giờ).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy. Giữ cho khoảng cách giữa cánh khuấy và đáy bình là (45 ± 5) mm.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 60 phút

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan chế phẩm, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ thích hợp nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được ở bước sóng cực đại 276 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch môi trường hòa tan làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch tetracyclin hydroclorid chuẩn có nồng độ tương đương với dung dịch thử pha trong môi trường hòa tan. Tính hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$, được hòa tan từ viên dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng của $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ trong tetracyclin hydroclorid chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80,0 % lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 phút.

Giới hạn 4-epianhydrotetracyclin

Không được quá 3,0 %.

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung môi pha loãng và điều kiện sắc ký thực hiện như mô tả trong phần Định lượng.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chất chuẩn 4-epianhydrotetracyclin hydroclorid trong dung môi pha loãng để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 15 µg/ml.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn trên và so sánh với sắc ký đồ của dung dịch thử ở phần Định lượng.

Tính hàm lượng % của 4-epianhydrotetracyclin so với lượng tetracyclin hydroclorid có trong viên dựa vào diện tích pic 4-epianhydrotetracyclin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ 4-epianhydrotetracyclin của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch amoni oxalat 0,1 M - dimethylformamid - dung dịch diamoni hydrophosphat 0,2 M (68 : 27 : 5). Điều chỉnh pH của hỗn hợp từ 7,6 đến 7,7 bằng dung dịch amoni hydroxyd 3 M (TT) hoặc dung dịch acid phosphoric 3 M.

Dung môi pha loãng: Dung dịch amoni oxalat 0,1 M - dimethylformamid (68 : 27).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng đã cân chính xác tetracyclin hydroclorid chuẩn với dung môi pha loãng và pha loãng từng bước với cùng dung môi để thu được dung dịch có chứa khoảng 0,5 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg tetracyclin hydroclorid chuyển vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng 50 ml dung môi pha loãng, trộn đều và lắc siêu âm trong khoảng 5 phút. Để nguội, pha loãng tới định mức với dung môi pha loãng và lọc.

Dung dịch phân giải: Chuẩn bị một dung dịch trong dung môi pha loãng có chứa 100 µg tetracyclin hydroclorid và 25 µg chất chuẩn 4-epianhydrotetracyclin hydroclorid trong 1 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột bảo vệ (tiền cột): cột thép không gỉ (3 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh B (10 µm).

Cột phân tích: cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh B (5 µm đến 10 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của 4-epianhydrotetracyclin là 0,9 và tetracyclin là 1,0. Hệ số phân giải giữa pic 4-epianhydrotetracyclin và tetracyclin là không dưới 1,2.

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tetracyclin hydroclorid trong 6 lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$, trong viên dựa vào các diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ trong tetracyclin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Đóng trong lọ kín hoặc ép trong vi. Để nơi khô, mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

0,125 g (125 000 IU); 0,25 g (250 000 IU).

THAN HOẠT TÍNH***Carbo activatus***

Than hoạt tính là chất có khả năng hấp phụ cao, thu được từ quá trình than hóa thích hợp các chất có nguồn gốc thực vật.

Tính chất

Bột nhẹ, màu đen, rất xốp. Thực tế không tan trong các dung môi thông thường.

Định tính

A. Khi đốt đến nóng đỏ, chế phẩm cháy chậm và không thành ngọn lửa.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử “Khả năng hấp phụ”.

Dung dịch S: Lấy 2,0 g chế phẩm vào một bình nón nút mài, thêm 50 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT). Đun sôi nhẹ dưới ống sinh hàn hồi lưu trong 1 giờ, lọc và rửa phễu lọc bằng dung dịch acid hydrocloric loãng (TT). Gộp dịch lọc và nước rửa rồi bốc hơi đến khô trên cách thủy, hòa tan cặn trong dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 40 ml nước vào 2,0 g chế phẩm và đun sôi trong 5 phút. Để nguội, hoàn lại thể tích ban đầu bằng nước không có carbon dioxyd (TT) và lọc. Bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Thêm vào 10 ml dịch lọc 0,25 ml dung dịch xanh bromothymol (TT) và 0,25 ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 M (CD), dung dịch phải có màu

xanh. Màu của chỉ thị phải chuyển sang vàng khi thêm không quá 0,75 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,02 M (CD)*.

Chất tan trong acid

Không được quá 3 %.

Thêm 25 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* vào 1,0 g chế phẩm và đun sôi trong 5 phút. Lọc nóng qua phễu lọc thủy tinh xốp số 10 và rửa bằng 10 ml *nước nóng*. Gộp dịch chiết và *nước rửa*, bốc hơi đến khô trên cách thủy, thêm vào cân 1 ml *acid hydrocloric (TT)*, bốc hơi lại đến khô và sấy cân đến khối lượng không đổi ở 100 °C đến 105 °C. Khối lượng cân không được quá 30 mg.

Chất màu tan trong kiềm

Thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* vào 0,25 g chế phẩm và đun sôi trong một phút. Để nguội, lọc và pha loãng dịch lọc thành 10 ml bằng *nước*. Dung dịch không được có màu đậm hơn màu mẫu VL₄ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chất tan trong ethanol

Không được quá 0,5 %.

Thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)* vào 2,0 g chế phẩm và đun sôi dưới ống sinh hàn hồi lưu trong 10 phút. Lọc ngay, để nguội và pha loãng thành 50 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*. Dịch lọc này không được có màu đậm hơn màu mẫu V₆ hoặc VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2). Bốc hơi 40 ml dịch lọc đến khô và sấy cân đến khối lượng không đổi ở 100 °C đến 105 °C. Khối lượng cân không được quá 8 mg.

Chất huỳnh quang

Chiết 10,0 g chế phẩm với 100 ml *cyclohexan (TT)* trong 2 giờ trong bộ chiết Soxhlet. Lấy phần dung dịch và pha loãng thành 100 ml bằng *cyclohexan (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Huỳnh quang của dung dịch này không được đậm hơn dung dịch chứa 83 µg *quinin* trong 1000 ml *dung dịch acid sulfuric 0,005 M (CD)* được quan sát trong cùng điều kiện.

Sulfid

Lấy 1,0 g chế phẩm vào trong một bình nón, thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và 20 ml *nước*. Đun đến sôi. Khí giải phóng ra không được làm *giấy tím chì acetat (TT)* chuyển thành màu nâu.

Đồng

Không được quá 25 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch S.

Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị các dung dịch đối chiếu bằng cách pha loãng *dung dịch đồng mẫu 0,1 %* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Đo độ hấp thụ ở 325,0 nm, sử dụng đèn cathod rỗng đồng làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Chì

Không được quá 10 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch S.

Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị các dung dịch đối chiếu bằng cách pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Đo độ hấp thụ ở 283,3 nm, sử dụng đèn cathod rỗng chì làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen. Tùy thuộc vào máy, có thể sử dụng vạch ở 217,0 nm.

Kẽm

Không được quá 25 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch S.

Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị các dung dịch đối chiếu bằng cách pha loãng *dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Đo độ hấp thụ ở 214,0 nm, sử dụng đèn cathod rỗng kẽm làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 15 % (Phụ lục 9.6).

(1,00 g; 120 °C; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Khả năng hấp phụ

Lấy 0,300 g chế phẩm vào trong một bình nón nút mài dung tích 100 ml, thêm 25,0 ml dung dịch mới pha có chứa 0,5 g *phenazon (TT)* trong 50 ml *nước*. Lắc kỹ trong 15 phút. Lọc và bỏ 5 ml dịch lọc đầu. Lấy 10,0 ml dịch lọc, thêm 1,0 g *kali bromid (TT)*, 20 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*, chuẩn độ bằng *dung dịch kali bromat 0,1 N (CD)* đến khi mất màu đỏ. Gần điểm kết thúc chuẩn độ, chuẩn độ chậm (1 giọt trong 15 giây). Song song tiến hành làm mẫu trắng, dùng 10,0 ml dung dịch *phenazon* trên.

Tính khối lượng *phenazon* đã được hấp phụ bởi 100 g than hoạt tính theo công thức:

$$\frac{2,353 \times (a - b)}{m}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch kali bromat 0,1 N (CD)* đã dùng cho mẫu trắng;

b là số ml *dung dịch kali bromat 0,1 N (CĐ)* đã dùng cho mẫu thử;

m là khối lượng chế phẩm tính ra gam.

100 g than hoạt tính (tính theo chế phẩm đã làm khô) hấp phụ không được dưới 40 g phenazon.

Độ nhiễm khuẩn

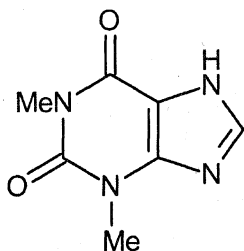
Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không được quá 1000 trong 1,0 g chế phẩm, xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6).

Bảo quản

Trong chai lọ kín.

THEOPHYLIN

Theophyllinum



$C_7H_8N_4O_2$

P.t.l.: 180,2

$C_7H_8N_4O_2 \cdot H_2O$

P.t.l.: 198,2

Theophyllin là 1,3-dimethyl-3,7 dihydro-1*H*-purin-2,6-dion ở dạng ngậm một phân tử nước hoặc khan, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_7H_8N_4O_2$ tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột tinh thể trắng. Khó tan trong nước, hơi tan trong ethanol, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm, amoniac và các acid vô cơ.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, D.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phở hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm sau khi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C phải phù hợp với phở hấp thụ hồng ngoại của theophyllin chuẩn.

B. Điểm chảy (Phụ lục 6.7) của chế phẩm sau khi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C, ở trong khoảng 270 °C đến 274 °C.

C. Đun 10 mg chế phẩm với 1,0 ml *dung dịch kali hydroxyd 36 %* trong cách thủy ở 90 °C trong 3 phút, sau đó thêm 1,0 ml *dung dịch acid sulfanilic đã được diazo hóa (TT)*. Màu đỏ xuất hiện chậm. Thực hiện một mẫu trắng.

D. Chế phẩm phải đạt yêu cầu của phép thử Mất khối lượng do làm khô hoặc xác định hàm lượng Nước.

E. Chế phẩm phải cho phản ứng của nhóm xanthin (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) bằng cách đun nóng, để nguội và pha loãng thành 75 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* vào 50 ml *dung dịch S*, dung dịch có màu đỏ và phải chuyển sang vàng khi thêm không quá 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniack đậm đặc - acetone - cloroform - butanol (10 : 30 : 30 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong hỗn hợp methanol - cloroform (4 : 6) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,5 ml *dung dịch thử* thành 100 ml bằng hỗn hợp methanol - cloroform (4 : 6).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ, ngoài vết chính, bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử đều không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô (áp dụng với chế phẩm dạng khan)

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g; 105 °C).

Nước (áp dụng với chế phẩm dạng ngậm nước)

Từ 8,0 % đến 9,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,00 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm dạng khan hoặc 0,160 g chế phẩm dạng ngậm nước trong 100 ml nước, thêm 20 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* và lắc. Thêm 1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD)* tương đương với 18,02 mg $C_7H_8N_4O_2$.

Bảo quản

Đề trong lọ nút kín.

Loại thuốc

Giãn khí - phế quản, giãn cơ trơn mạch máu, lợi tiểu. Trị hen suyễn.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN THEOPHYLIN

Tabellae Theophyllini

Là viên nén chứa theophylin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, từ 94,0 % đến 106,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng, không mùi.

Định tính

A. Nghiền một lượng bột viên tương đương 500 mg theophylin với lần lượt 10 ml và 5 ml *hexan (TT)*, gạn bỏ dung môi hexan. Tiếp tục nghiền cấn 2 lần, mỗi lần với 10 ml hỗn hợp đồng thể tích *dung dịch amoniac 6 M (TT)* và *nước*, lọc lấy dịch lọc. Bốc hơi dịch lọc đến còn khoảng 5 ml, trung tính bằng *dung dịch acid acetic 6 M (TT)* nếu cần, dùng giấy quỳ làm chỉ thị. Làm lạnh dung dịch đến 15 °C, vừa làm lạnh vừa khuấy. Lọc lấy tủa và rửa tủa bằng *nước lạnh*. Sấy tủa ở 105 °C trong 2 giờ. Điểm chảy của tủa sau khi sấy phải từ 270 °C đến 274 °C (Phụ lục 6.7).

B. Phổ hồng ngoại của tủa sau khi sấy ở mục A, phân tán trong *kali bromid tinh khiết IR (TT)*, phải phù hợp với phổ hồng ngoại của theophylin chuẩn.

C. Lấy 0,10 g bột viên đã tán nhỏ vào chén sứ, thêm 10 giọt *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 10 giọt *dung dịch hydrogen peroxyl đậm đặc (TT)*, đun cách thủy cho bay hơi đến khô. Nhỏ vào cấn 1 giọt đến 2 giọt *amoniac đậm đặc (TT)* sẽ xuất hiện màu đỏ tía.

D. Lấy 0,5 g bột viên, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)*, lắc 2 phút, lọc, thêm vào dịch lọc 4 giọt *dung dịch cobalt clorid 2 % (TT)*, trộn đều sẽ xuất hiện tủa trắng hồng (phân biệt với theobromin và cafein).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dung dịch lọc với *nước* (nếu cần), đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 272 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng *nước* làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch theophylin chuẩn có nồng độ tương đương với dung dịch thử, pha trong *nước*.

Tính hàm lượng theophylin được hòa tan dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng $C_7H_8N_4O_2$ trong theophylin chuẩn.

Yêu cầu: Không dưới 80 % lượng theophylin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 0,2 g theophylin. Lắc với 50 ml *nước* (vừa mới đun sôi trong vòng 5 phút). Thêm 25 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CD)* và 1 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD)* đến khi dung dịch có màu đỏ hồng.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD)* tương đương với 18,02 mg $C_7H_8N_4O_2$.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín.

Loại thuốc

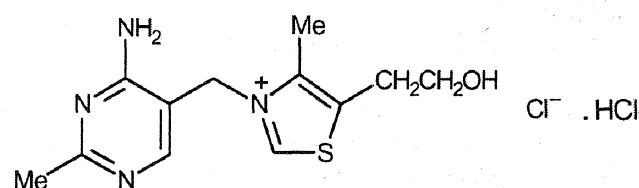
Thuốc giãn phế quản nhóm xanthin.

Hàm lượng thường dùng

100 mg.

THIAMIN HYDROCLORID B_1

Thiaini hydrochloridum



$C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$

P.t.l: 337,3

Thiamin hydroclorid là 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4- methylthiazol clorid hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Tinh thể không màu hoặc bột kết tinh trắng hay gần như trắng. Có mùi nhẹ và đặc trưng. Dễ tan trong nước, tan trong glycerin, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong cloroform và ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của thiamin hydroclorid chuẩn.

B. Hòa tan khoảng 20 mg chế phẩm trong 10 ml nước, thêm 1 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT) và 1,6 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), đun nóng trên cách thủy 30 phút, để nguội. Thêm 5 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), 10 ml dung dịch kali fericyanid 5 % (TT) và 10 ml n-butanol (TT), lắc mạnh 2 phút. Lồng butanol ở trên cho huỳnh quang xanh lam rõ, đặc biệt khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Làm lại phản ứng nhưng dùng 0,9 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M và 0,2 g natri sulfid (TT) thay cho 1,6 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M, lồng butanol không có huỳnh quang.

C. Chế phẩm cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Pha loãng 2,5 ml dung dịch S thành 5 ml bằng nước, dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không đậm hơn màu mẫu V_7 hay VL_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Pha loãng 2,5 ml dung dịch S thành 10 ml bằng nước, pH của dung dịch thu được phải từ 2,7 đến 3,3 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch A: Hỗn hợp acid acetic băng - nước (5 : 95).

Pha động A: Dung dịch natri hexansulfonat 0,3764 % đã được chỉnh đến pH 3,1 bằng acid phosphoric (TT).

Pha động B: Methanol loại dùng cho sắc ký lỏng.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,35 g chế phẩm trong 15,0 ml dung dịch A và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg chế phẩm và 5 mg thioxothiamin chuẩn (tạp chất E) trong 4 ml dung dịch A và pha loãng thành 25,0 ml bằng nước. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng nước. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,0 mm) được nhồi end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký lỏng hạt hình cầu (5 µm), với diện tích bề mặt riêng 350 m²/g và kích thước lỗ xốp là 10 nm.

Nhiệt độ cột: 45 °C.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 248 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/phút.

Thể tích tiêm: 25 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành chạy sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 25	90 → 70	10 → 30
25 - 33	70 → 50	30 → 50
33 - 40	50	50
40 - 45	50 → 90	50 → 10

Thời gian lưu tương đối của các tạp so với pic thiamin (khoảng 30 phút) như sau: tạp chất A khoảng 0,3, tạp chất B khoảng 0,9, tạp chất C khoảng 1,2.

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic tạp chất E và pic thiamin không nhỏ hơn 1,6.

Tiêm dung dịch đối chiếu (2) và dung dịch thử. Yêu cầu trên sắc ký đồ của dung dịch thử: Không có pic tạp nào có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,4 %).

Tổng diện tích của các pic tạp không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,125 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl) methyl]-4-methyl-5-[2-(sulphonatooxy) ethyl]thiazol (ester thiamin sulfat).

Tạp chất B: 3-[(4-aminopyrimidin-5-yl)methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol (desmethylthiamin).

Tạp chất C: 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)-methyl]-5-(2-cloroethyl)-4-methylthiazol (clorothiamin).

Tạp chất D: 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol-2(3H)-on (oxothiamin)

Tạp chất E: 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)-methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol-2(3H)-thion (thioxothiamin).

Tạp chất F: 3-[(4-amino-2-ethylpyrimidin-5-yl)-methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol (ethylthiamin).

Tạp chất G: 5-[2-(acetyloxy)ethyl]-3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)methyl]-4-methylthiazol (acetylthiamin).

Tạp chất H: (3RS)-3-[[[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)methyl]thiocarbamoyl]sulphonyl]-4-oxopentyl acetat (ketodithiocarbamat).

Sulfat

Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 5 ml dung dịch S pha loãng với nước thành 15 ml để thử.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S để thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chì mẫu 2 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,40 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,110 g chế phẩm trong 5 ml acid formic khan (TT), thêm 50 ml anhydrid acetic (TT). Chuẩn độ ngay bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 6.12), thời gian chuẩn độ trong vòng 2 phút. Làm mẫu trắng song song trong cùng điều kiện.

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ) tương đương với 16,86 mg $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín (không làm bằng kim loại), tránh ánh sáng.

Nhãn

Phải quy định rõ thời hạn sử dụng và cách bảo quản.

Loại thuốc

Vitamin nhóm B.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM THIAMIN HYDROCLORID

Injectio Thiamini Hydrochloridi

Thuốc tiêm vitamin B₁

Là dung dịch vô khuẩn của thiamin hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng thiamin hydroclorid, $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

A. Lấy một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 20 mg thiamin hydroclorid, pha loãng với nước thành

10 ml. Tiếp tục tiến hành như mô tả ở phép thử định tính B trong chuyên luận "Thiamin hydroclorid", bắt đầu từ "thêm 1 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT)...".

B. Trong phần định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic thiamin hydroclorid trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

C. Chế phẩm cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 2,5 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 1 g natri heptan sulfonat (TT) trong hỗn hợp gồm 180 ml methanol (TT) và 10 ml triethylamin (TT), pha loãng với nước thành 1000 ml. Điều chỉnh tới pH 3,2 với acid phosphoric (TT).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch thiamin hydroclorid chuẩn trong dung dịch acid hydrocloric 0,005 M (TT), có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg/ml.

Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 100 mg thiamin hydroclorid, pha loãng với dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) thành 100,0 ml, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với nước, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 244 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng thiamin hydroclorid, $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$, trong thuốc tiêm dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

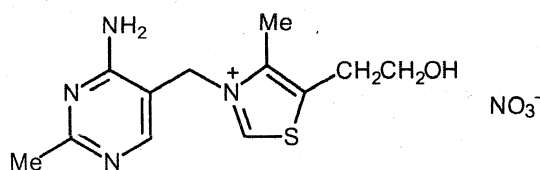
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

2,5 %.

THIAMIN NITRAT***Thiaini mononitras***C₁₂H₁₇N₅O₄S

P.t.l: 327,4

Thiamin nitrat là 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol nitrat, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % C₁₂H₁₇N₅O₄S, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng hoặc tinh thể nhỏ không màu. Hơi tan trong nước, dễ tan trong nước sôi, khó tan trong ethanol 96 % và methanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của thiamin nitrat chuẩn.

B. Hòa tan khoảng 20 mg chế phẩm trong 10 ml nước, thêm 1 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT) và 1,6 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), đun nóng trên cách thủy 30 phút, để nguội. Thêm 5 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), 10 ml dung dịch kali fericyanid 5 % (TT) và 10 ml n-butanol (TT), lắc mạnh 2 phút. Lóp butanol ở trên cho huỳnh quang xanh lam rõ, đặc biệt khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Làm lại phản ứng nhưng dùng 0,9 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT) và 0,2 g natri sulfat (TT) thay cho 1,6 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), lóp butanol không có huỳnh quang.

C. 5 mg chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của ion nitrat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của màu mẫu V₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S phải từ 6,8 đến 7,6 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch A: Trộn đều 5 thể tích acid acetic băng (TT) và 95 thể tích nước.

Pha động A: Dung dịch natri hexansulfonat (TT) 0,3764 % đã được chỉnh đến pH 3,1 bằng acid phosphoric (TT).

Pha động B: Methanol dùng cho sắc ký lỏng.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,35 g chế phẩm trong 15,0 ml dung dịch A và pha loãng thành 100,0 ml với nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg chế phẩm và 5 mg thioxothiamin chuẩn (tạp chất E) trong 4 ml dung dịch A và pha loãng thành 25,0 ml bằng nước. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh end-capped octadecyl silica gel dùng cho sắc ký lỏng hạt hình cầu (4 μm) với diện tích bề mặt 350 m²/g và kích thước lỗ xốp là 10 nm.

Nhiệt độ cột: 45 °C.

Detector: Quang phổ tử ngoại ở bước sóng 248 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 25 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành chạy sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 25	90 → 70	10 → 30
25 - 33	70 → 50	30 → 50
33 - 40	50	50
40 - 45	50 → 90	50 → 10

Thời gian lưu tương đối của các tạp so với pic thiamin (khoảng 30 phút) như sau: tạp chất A khoảng 0,3, tạp chất B khoảng 0,9, tạp chất C khoảng 1,2.

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic tạp chất E và pic thiamin không nhỏ hơn 1,6.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Yêu cầu trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Không có pic tạp nào có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Tổng diện tích của các pic tạp không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)methyl]-4-methyl-5-[2-(sulphonatooxy)ethyl]thiazol (ester thiamin sulfat).

Tạp chất B: 3-[(4-aminopyrimidin-5-yl)methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol (desmethylthiamin).
Tạp chất C: 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)-methyl]-5-(2-chloroethyl)-4-methylthiazol (cloro-thiamin).
Tạp chất E: 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)-methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol-2(3H)-thion (thioxothiamin).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,140 g chế phẩm trong 5 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 50 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ ngay bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), thời gian chuẩn độ trong vòng 2 phút. Làm mẫu trắng song song trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 16,37 mg $C_{12}H_{17}N_5O_4S$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín (không làm bằng kim loại), tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin B₁.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc tiêm.

VIÊN NÉN THIAMIN

Tabellae Thiamini

Viên nén vitamin B₁

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa thiamin hydroclorid hay thiamin nitrat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng thiamin hydroclorid, $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ hay **thiamin nitrat**, $C_{12}H_{17}N_5O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu đồng đều.

Định tính

Đối với viên chứa thiamin hydroclorid: Phép thử A và B.

Đối với viên chứa thiamin nitrat: Phép thử A và C.

Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg vitamin B₁, thêm 25 ml *nước*, lắc kỹ, lọc (*dung dịch A*).

A. Lấy 10 ml *dung dịch A*, tiếp tục tiến hành như mô tả ở phép thử định tính B trong chuyên luận “Thiamin hydroclorid”, bắt đầu từ “thêm 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*...”.

B. *Dung dịch A* cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

C. *Dung dịch A* cho phản ứng A của ion nitrat (Phụ lục 8.1).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký và cách tiến hành: Như mô tả trong chuyên luận “Thuốc tiêm Thiamin hydroclorid”.

Dung dịch chuẩn: *Dung dịch thiamin hydroclorid chuẩn* hay *thiamin nitrat chuẩn* trong *dung dịch acid hydrocloric 0,005 M (TT)*, có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg thiamin hydroclorid hay thiamin nitrat, thêm 70 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,005 M (TT)*, để siêu âm 10 phút, pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,005 M (TT)* thành 100,0 ml, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,005 M (TT)* thành 100,0 ml, lắc đều.

Tính hàm lượng thiamin hydroclorid, $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$, hay thiamin nitrat, $C_{12}H_{17}N_5O_4S$ trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) của pic chính trên sắc ký đồ thu được của *dung dịch thử*, *dung dịch chuẩn* và nồng độ $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ hay $C_{12}H_{17}N_5O_4S$ của *dung dịch chuẩn*.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

10 mg.

VIÊN NÉN VITAMIN B₁, B₆ VÀ B₁₂

Tabellae Vitamini B₁, B₆ et B₁₂

Là viên nén hoặc viên nén bao chứa thiamin hydroclorid (hoặc thiamin nitrat), pyridoxin hydroclorid và cyanocobalamin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng thiamin hydroclorid, C₁₂H₁₇ClN₄OS.HCl, hoặc **thiamin nitrat**, C₁₂H₁₇N₅O₄S, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng pyridoxin hydroclorid, C₈H₁₁NO₃.HCl, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng cyanocobalamin, C₆₃H₈₈CoN₁₄O₁₄P, từ 90,0 % đến 150,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu đồng nhất.

Định tính

A. Trong phần Định lượng vitamin B₁ và B₆, thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương đương với thời gian lưu của pic thiamin và pic pyridoxin trong sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

B. Trong phần Định lượng vitamin B₁₂, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương đương với thời gian lưu của pic cyanocobalamin trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Định lượng vitamin B₁ và B₆

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 1,40 g *natri 1-hexansulfonat* (TT) trong 1000 ml hỗn hợp nước - methanol - acid acetic băng (73 : 27 : 1). Điều chỉnh pha động, nếu cần.

Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp nước - acetonitril - acid acetic băng (94 : 5 : 1).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch vitamin chuẩn trong dung môi pha mẫu có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg thiamin hydroclorid hay thiamin nitrat/ml và 0,05 mg pyridoxin hydroclorid/ml.

Dung dịch thử: Loại bỏ lớp vỏ bao. Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg pyridoxin hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung môi pha mẫu, lắc kỹ trong 15 phút, thêm dung môi pha mẫu đến định mức, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml với dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích

pic chính (riêng biệt) trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm lặp lại không được quá 3,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng thiamin hydroclorid (C₁₂H₁₇ClN₄OS.HCl), hoặc thiamin nitrat (C₁₂H₁₇N₅O₄S), và pyridoxin hydroclorid (C₈H₁₁NO₃.HCl) trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic thiamin và pic pyridoxin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử, nồng độ C₁₂H₁₇ClN₄OS.HCl (hay C₁₂H₁₇N₅O₄S) và C₈H₁₁NO₃.HCl của dung dịch chuẩn.

Định lượng vitamin B₁₂

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp methanol - nước (35 : 65). Điều chỉnh pha động, nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch cyanocobalamin chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 10 μg/ml.

Dung dịch thử: Loại bỏ lớp vỏ bao. Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 250 μg cyanocobalamin vào bình 50 ml, thêm 25,0 ml nước, lắc kỹ trong 15 phút (hay để siêu âm 5 phút), lọc (hay ly tâm). Sử dụng dịch lọc (hay dịch trong ở trên).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại khả kiến đặt ở bước sóng 550 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm lặp lại không được quá 3,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng cyanocobalamin, C₆₃H₈₈CoN₁₄O₁₄P, trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic cyanocobalamin thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ C₆₃H₈₈CoN₁₄O₁₄P của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

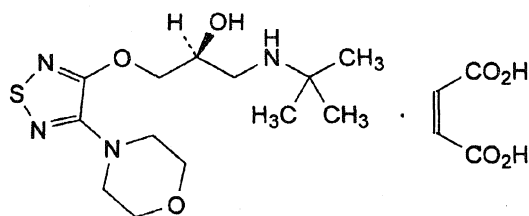
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

Vitamin B₁ 125 mg, vitamin B₆ 125 mg và vitamin B₁₂ 125 μg.

TIMOLOL MALEAT*Timololi maleas*C₁₃H₂₄N₄O₃S.C₄H₄O₄

P.t.l: 432,5

Timolol maleat là (2*S*)-1-[(1,1-dimethylethyl)amino]-3-[[4-(morpholin-4-yl)-1,2,5-thiadiazol-3-yl]oxy]propan-2-ol (Z)-butendioat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % C₁₃H₂₄N₄O₃S.C₄H₄O₄, tính trên chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng hoặc tinh thể không màu. Tan trong nước và ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether. Nóng chảy ở 199 °C kèm theo sự phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phở hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phở hồng ngoại của timolol maleat chuẩn.

B. Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4) từ -5,7° đến -6,2°.

C. Kiểm tra sắc ký đồ thu được ở mục thử “Tập chất liên quan” sau khi tiếp xúc với hơi iod. Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải giống về màu sắc, vị trí và kích thước của vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

D. Nghiền 0,1 g chế phẩm với hỗn hợp chứa 1 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và 3 ml *nước*. Lắc hỗn hợp trên 3 lần với *ether*, mỗi lần 5 ml. Lấy 0,1 ml lớp nước, thêm vào dung dịch chứa 10 mg *resorcinol (TT)* trong 3 ml *acid sulfuric (TT)*. Đun trên cách thủy 15 phút. Không xuất hiện màu đỏ tím. Trung hòa phần còn lại của lớp nước với *acid sulfuric loãng (TT)* và thêm 1 ml *nước brom (TT)*. Đun cách thủy 15 phút, sau đó đun đến sôi và để nguội. Lấy 0,2 ml dung dịch này, thêm vào dung dịch chứa 10 mg *resorcinol (TT)* trong 3 ml *acid sulfuric (TT)*. Đun cách thủy 15 phút. Xuất hiện màu đỏ tím. Thêm 0,2 ml *dung dịch kali bromid 10 %*, đun cách thủy 5 phút, dung dịch chuyển sang màu xanh tím.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch N₈ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S phải từ 3,8 đến 4,3 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất đối quang

Không được quá 1 %.

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: Diethylamin - 2-propanol - hexan (2 : 40 : 960).

Dung dịch thử: Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp *methylen clorid - 2-propanol* (1 : 3) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30 mg timolol maleat chuẩn trong hỗn hợp *methylen clorid - 2-propanol* (1 : 3) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 15,0 mg (R)-timolol maleat chuẩn trong hỗn hợp *methylen clorid - 2-propanol* (1 : 3) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch trên thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100 ml bằng hỗn hợp *methylen clorid - 2-propanol* (1 : 3). Trộn đều 1 ml dung dịch này với 1 ml dung dịch đối chiếu (2).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4,6 mm) được nhồi silica gel OD dùng để tách đối quang R (5 μm).

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở 297 nm.

Thể tích tiêm: 5 μl

Ở điều kiện này pic ứng với đồng phân (R) sẽ xuất hiện trước.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ ít nhất bằng 50 % của thang đo. Tiêm từng dung dịch trên. Phép thử chỉ có giá trị nếu độ phân giải giữa các pic ứng với đồng phân (R) và (S) trong sắc ký đồ của dung dịch phân giải ít nhất là 4,0; thời gian lưu của pic chính (ứng với đồng phân S) thu được trong sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) là giống nhau.

Diện tích của bất kỳ pic nào ứng với đồng phân R trong sắc ký đồ dung dịch thử không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (1 %).

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,4 %.

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniac - methanol - methylen clorid (1 : 20 : 80).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 50 ml bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg timolol maleat chuẩn trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 10 ml dung dịch thử (2) thành 50 ml bằng *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất cứ vết nào (ngoài vết chính) trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,4 %). Không kể đến vết ở vạch xuất phát. Cho bản mỏng tiếp xúc với hơi iod trong 2 giờ. Bất cứ vết nào (ngoài vết chính) trong sắc ký đồ dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết trong sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2) (0,4 %). Không kể đến vết ở vạch xuất phát.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,35 g chế phẩm trong 60 ml *acid acetic khan* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1N* (CD), điểm kết thúc được xác định bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N* (CD) tương đương với 43,25 mg $C_{13}H_{24}N_4O_3S.C_4H_4O_4$.

Bảo quản

Đề trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng beta adrenoreceptor.

Chế phẩm

Thuốc nhỏ mắt, viên nén.

TINH BỘT

Amylum

Tính chất

Tinh bột $(C_6H_{10}O_5)_n$ là bột đã tinh chế, được tách ra từ hạt của các loại cây ngũ cốc hoặc từ củ của các loại cây như sắn, khoai tây. Tinh bột có màu trắng, không mùi, khi miết giữa hai ngón tay có tiếng cọt kẹt nhẹ.

Không tan trong nước lạnh, ethanol và ether, tan trong nước nóng tạo thành gel, sánh khi để nguội.

Ghi chú: Tinh bột có nguồn gốc thực vật khác nhau có thể không có tính chất giống nhau khi sử dụng để bào

chế thuốc, ví dụ dùng làm tá dược rã cho thuốc viên nén. Vì thế, các loại tinh bột không thay thế lẫn cho nhau được, trừ phi sự tương đương về tính chất đã được chứng minh.

1. **Tinh bột gạo tẻ (*Amylum Oryzae*):** Lấy từ hạt cây lúa (*Oryza sativa*. L.), họ Lúa (Poaceae). Hạt hình nhiều cạnh, có kích thước 2 µm đến 5 µm, đứng riêng rẽ hoặc tụ lại thành khối hình trứng có kích thước 10 µm đến 20 µm. Rốn nằm giữa hạt không nhìn rõ, không có vân tăng trưởng.

2. **Tinh bột lúa mì (*Amylum Tritici*):** Lấy từ hạt cây lúa mì (*Triticum* sp.), họ Lúa (Poaceae). Hạt tinh bột có kích thước lớn hoặc nhỏ, ít khi có kích thước trung gian. Hạt lớn có kích thước 10 µm đến 45 µm, đa số có dạng hình đĩa. Các hạt nhỏ hình tròn hoặc hình nhiều cạnh, kích thước 2 µm đến 10 µm. Rốn nằm ở giữa, vân tăng trưởng không nhìn rõ.

3. **Tinh bột ngô (*Amylum mays*):** Lấy từ hạt cây ngô (*Zea mays* L.), họ Lúa (Poaceae). Hạt tinh bột hình nhiều cạnh, kích thước 2 µm đến 23 µm, có thể hình tròn kích thước 25 µm đến 32 µm. Rốn nằm ở giữa hạt hình chấm hay phân nhánh, không có vân tăng trưởng.

4. **Tinh bột khoai tây (*Amylum Solani*):** Lấy từ củ của cây khoai tây (*Solanum tuberosum* L.), họ Cà (Solanaceae). Hạt không có hình dạng nhất định, hình trứng hoặc hình quả lê kích thước 30 µm đến 100 µm, hình tròn có kích thước 10 µm đến 35 µm. Các hạt đôi khi tụ lại thành đám có từ 2 hạt đến 4 hạt. Rốn hình chấm không nằm ở giữa, vân tăng trưởng đồng tâm nhìn rõ.

5. **Tinh bột sắn (*Amylum Manihoti*):** Lấy từ củ của cây sắn (*Manihot utilissima* Pohl.), họ thầu dầu (Euphorbiaceae). Hạt tinh bột sắn có hình dạng thay đổi, một số hạt tròn, đa số hình chuông. Kích thước hạt thay đổi, hạt nhỏ có kích thước 5 µm đến 10 µm, hạt lớn có kích thước 20 µm đến 35 µm. Các hạt tinh bột đứng riêng lẻ hay tụ tập thành từng đám vài hạt. Rốn nằm ở giữa thẳng hay phân nhánh, vân tăng trưởng không rõ.

Định tính

A. Soi kính hiển vi các loại hạt tinh bột phải có những đặc điểm đã nêu ở trên.

B. Lấy 2 g chế phẩm cho vào cốc thủy tinh, thêm 25 ml nước, khuấy đều, đun sôi tới chín tinh bột trong 5 phút đến 10 phút, để nguội sẽ được khối gel trong hơi đục, hơi trắng, dính tay.

C. Lấy một ít hồ (gel) ở mục B, hòa vào 2 ml đến 3 ml nước, thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch iod 0,1 N* (TT), sẽ xuất hiện màu xanh thâm.

Tap chất lạ

Lấy 5,0 g chế phẩm, hòa vào 50 ml nước trong cốc thủy tinh hình trụ, đường kính khoảng 5 cm. Khuấy mạnh theo một chiều trong 5 phút, để lắng trong

10 phút. Nhìn dưới đáy cốc không được có tạp chất lạ nặng chụm lại ở giữa đáy cốc, trên mặt nước cũng không được có tạp chất nhẹ nổi lên.

Giới hạn acid

Lấy 10,0 g chế phẩm, thêm 100 ml *ethanol* 70 % (TT) đã trung hòa trước bằng *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CĐ) dùng 0,5 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT) làm chỉ thị, lắc trong 1 giờ, lọc. Lấy 50,0 ml dịch lọc, chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CĐ) đến khi chuyển màu dung dịch.

Thể tích *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CĐ) đã dùng không được quá 2,0 ml.

Sắt

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Hòa tan cần thu được ở mục thử Tro sulfat trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric* 1 M (TT), đun nóng nhẹ để hòa tan, lọc nếu cần và thêm *dung dịch acid hydrocloric* 1 M (TT) vừa đủ 20 ml, lắc đều, lấy 5 ml dung dịch pha loãng thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Chất oxy hóa

Không được quá 20 phần triệu.

Cho 4,0 g chế phẩm vào bình nón nút mài dung tích 125 ml, thêm 50,0 ml *nước*, đập nút, lắc trong 5 phút, lọc. Lấy 30,0 ml dịch lọc trong cho vào bình nón nút mài dung tích 125 ml, thêm 1 ml *acid acetic băng* (TT), 0,5 g đến 1,0 g *kali iodid* (TT). Đập nút, lắc, để vào chỗ tối 25 phút đến 30 phút. Thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột* (TT), định lượng bằng *dung dịch natri thiosulfat* 0,002 N (CĐ) tới khi mất màu chỉ thị. Song song tiến hành mẫu trắng.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat* 0,002 N (CĐ) tương đương với 34 µg chất oxy hóa, tính theo hydrogen peroxyd.

Thể tích *dung dịch natri thiosulfat* 0,002 N (CĐ) đã dùng không được quá 1,4 ml.

Sulfur dioxyd

Không được quá 80 phần triệu.

Lấy 20,0 g chế phẩm, lắc kỹ với 200,0 ml *nước* đến khi được hỗn dịch huyền phù đồng nhất. Lọc, lấy 100,0 ml dịch lọc trong, thêm 3 ml *dung dịch hồ tinh bột* (TT), chuẩn độ bằng *dung dịch iod* 0,01 N (CĐ) tới khi xuất hiện màu xanh.

Thể tích *dung dịch iod* 0,01 N (CĐ) đã dùng không được quá 2,7 ml.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3, dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 14,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 120 °C, 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Độ nhiễm khuẩn

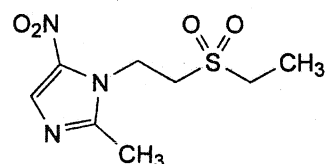
Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không được quá 1000 và tổng số nấm mốc không được quá 100 trong 1 g chế phẩm. Xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.7).

Chế phẩm không được có: *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Escherichia coli* (Phụ lục 13.7).

Bảo quản

Bảo quản trong đồ đựng kín.

TINIDAZOL



$C_8H_{13}N_3O_4S$

P.t.l: 247,3

Tinidazol là 1-[2-(ethylsulphonyl)ethyl]-2-methyl-5-nitro-1H-imidazol, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_8H_{13}N_3O_4S$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh gần như trắng hoặc vàng nhạt, thực tế không tan trong *nước*, tan trong *aceton* và trong *methylen clorid*, hơi tan trong *methanol*.

Định tính

Có thể chọn 1 trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của tinidazol chuẩn.

B. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm vào *methanol* (TT) rồi pha loãng đến 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml với *methanol* (TT). Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch trong khoảng 220 nm đến 350 nm có hấp thụ cực đại ở 310 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại từ 340 đến 360.

C. Điểm chảy của chế phẩm phải từ 125 °C đến 128 °C (Phụ lục 6.7).

D. Quan sát sắc ký đồ thu được trong mục Tạp chất liên quan: Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.

E. Lấy khoảng 10 mg chế phẩm rồi thêm 10 mg *bột kẽm* (TT), 0,3 ml *acid hydrocloric* (TT) và 1 ml *nước*.

Đun cách thủy trong 5 phút rồi để nguội. Dung dịch cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *acetone* (TT) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V₅ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 1 giờ rồi để nguội.

Dung môi khai triển: *Butanol - ethyl acetat* (25 : 75).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *methanol* (TT) bằng cách lắc siêu âm và pha loãng đến 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg tinidazol chuẩn trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml với *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 4 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10 ml với *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10 mg 2-methyl-5-nitroimidazol (TT) (tạp chất A) trong *methanol* (TT) rồi pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 10 mg tạp chất chuẩn B của tinidazol trong *methanol* (TT) rồi pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Nếu có xuất hiện vết tương ứng với tạp chất A và tạp chất B của tinidazol trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1) thì vết này không được đậm hơn màu của vết tương ứng thu được từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) và (5) (0,5 %). Nếu có các vết khác với vết chính và vết tương ứng với tạp chất A và tạp chất B của tinidazol trong sắc ký đồ thu được với dung dịch thử (1) thì không có vết nào được đậm hơn vết của sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %) và chỉ được phép có 1 vết trong số đó đậm hơn vết của sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 2-methyl-5-nitro-1*H*-imidazol.

Tạp chất B: 1-[2-(ethylsulphonyl)ethyl]-2-methyl-4-nitro-1*H*-imidazol.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 4. Dùng 2 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 25 ml *acid acetic khan* (TT). Định lượng bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CD), xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CD) tương đương với 24,73 mg C₈H₁₃N₃O₄S.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng nguyên sinh động vật, kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN TINIDAZOL

Tabellae Tinidazoli

Là viên nén bao phim chứa tinidazol.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu của viên bao trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng tinidazol, C₈H₁₃N₃O₄S, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén bao phim màu trắng.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương đương 0,1 g tinidazol cho vào ống nghiệm, đốt nóng nhẹ tạo khí sulfur dioxid có mùi hắc và làm đen giấy lọc tẩm *dung dịch thủy ngân nitrat* (TT).

B. Hòa tan một lượng bột viên tương đương 0,1 g tinidazol trong 5 ml *dung dịch acid sulfuric 5 %* (TT), lắc kỹ, lọc. Thêm vào dịch lọc 2 ml *dung dịch bão hòa acid picric* (TT), xuất hiện tủa màu vàng.

C. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch trong phần Định lượng phải có hai cực đại ở bước sóng 317 nm và 229 nm, một cực tiểu ở bước sóng 263 nm.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 2 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml, thêm nước đến định mức, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử ở bước sóng 317 nm. Tính hàm lượng tinidazol, $C_8H_{13}N_3O_4S$ đã hòa tan trong mỗi viên theo A (1%, 1 cm). Lấy 365 là giá trị A (1%, 1 cm) ở bước sóng 317 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % lượng tinidazol, $C_8H_{13}N_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 phút.

Định lượng

Cân 20 viên, loại bỏ lớp bao (nếu cần) và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg tinidazol vào bình định mức 200 ml, thêm nước vào và hòa tan bằng cách làm ấm, lắc liên tục 10 phút, để nguội về nhiệt độ phòng, thêm nước đến định mức, lắc đều, lọc bằng giấy lọc khô, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 5 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml, thêm nước đến định mức, lắc đều. Pha dung dịch tinidazol chuẩn có nồng độ 0,0012 % trong nước. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 317 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng mẫu trắng là nước.

Tính hàm lượng tinidazol, $C_8H_{13}N_3O_4S$, dựa theo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_8H_{13}N_3O_4S$ của tinidazol chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng nguyên sinh động vật, kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

500 mg.

TITAN DIOXYD

Titanii dioxidum

TiO₂

P.t.l : 79,9

Titan dioxyd phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % TiO₂.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, không tan trong acid vô cơ loãng nhưng tan chậm trong acid sulfuric đặc nóng.

Định tính

Dung dịch S₁: Lắc 20,0 g chế phẩm với 30 ml acid hydrochloric đậm đặc (TT) trong 1 phút. Thêm 100 ml

nước cất (TT), đun sôi. Lọc nóng cho đến khi thu được dung dịch trong. Rửa giấy lọc bằng 60 ml nước cất (TT) và pha loãng dịch lọc thu được đến 200 ml bằng nước cất (TT).

Dung dịch S₂: Trộn 0,500 g chế phẩm với 5 g natri sulfat khan (TT) trong bình nón cổ dài chịu nhiệt 300 ml. Thêm 10 ml nước, trộn đều. Thêm 10 ml acid sulfuric (TT), đun sôi mạnh cho đến khi thu được dung dịch trong. Làm lạnh, thêm từ từ hỗn hợp chứa 30 ml nước và 10 ml acid sulfuric (TT) đã làm lạnh, tiếp tục làm lạnh và pha loãng thành 100 ml bằng nước.

A. Đun nóng mạnh, chế phẩm có màu vàng nhạt và mất màu khi làm lạnh.

B. Thêm 0,1 ml dung dịch hydrogen peroxyd 30 % (TT) vào 5 ml dung dịch S₂. Dung dịch xuất hiện màu đỏ cam.

C. Thêm 0,5 g kẽm hạt (TT) vào 5 ml dung dịch S₂. Sau 45 phút, hỗn hợp có màu xanh tím.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S₂ không được đục hơn độ đục hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 50 ml nước cất không có carbon dioxyd (TT) vào 5,0 g chế phẩm, lắc trong 5 phút. Ly tâm hay lọc cho đến khi thu được dung dịch trong. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml dung dịch xanh bromothymol (TT). Lượng dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT) hoặc dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT) dùng để chuyển màu chỉ thị không được quá 1,0 ml.

Các chất tan trong nước

Không được quá 0,5 %.

Lấy 10,0 g chế phẩm, thêm dung dịch chứa 0,5 g amoni sulfat (TT) trong 150 ml nước, đun sôi trong 5 phút. Để nguội, pha loãng thành 200 ml với nước và lọc cho đến khi thu được dung dịch trong. Lấy 100 ml dịch lọc, bốc hơi đến cạn và nung cán ở 600 °C đến khối lượng không đổi. Khối lượng cán thu được không được quá 25 mg.

Antimony

Không được quá 0,01 %.

Lấy 10 ml dung dịch S₂, thêm 10 ml acid hydrochloric (TT) và 10 ml nước. Làm lạnh đến 20 °C (nếu cần), thêm 0,15 ml dung dịch natri nitrit 10 % (TT). Sau 5 phút, thêm 5 ml dung dịch hydroxylamin hydroclorid 1 % và 10 ml dung dịch rhodamin B 0,01 % vừa mới pha. Trộn đều mỗi khi thêm vào. Lắc mạnh với 10,0 ml toluen (TT) trong 1 phút. Để yên tách lớp hoặc ly tâm 2 phút nếu cần. Màu hồng xuất hiện trong lớp toluen không được đậm màu hơn màu hồng trong lớp toluen của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị trong cùng điều kiện, dùng hỗn hợp 5 ml dung dịch antimony

chuẩn 1 phần triệu Sb, 10 ml *acid hydrochloric* (TT) và 15 ml dung dịch chứa 0,5 g *natri sulfat khan* (TT) và 2 ml *acid sulfuric* (TT) thay thế hỗn hợp 10 ml dung dịch S₂, 10 ml *acid hydrochloric* (TT) và 10 ml nước.

Arsen

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Cân 0,5 g chế phẩm cho vào bình cầu đáy tròn có gắn nhiệt kế, cổ bình gắn với phễu có khóa và nối với ống dẫn khí vào một bình khác chứa 30 ml nước. Thêm 50 ml nước, 0,5 g *hydrazin sulfat* (TT), 0,5 g *kali bromid* (TT) và 20 g *natri clorid* (TT). Cho qua phễu từng giọt 25 ml *acid sulfuric* (TT), đun nóng và giữ ở nhiệt độ 110 °C đến 115 °C trong 20 phút. Hơi tạo ra được thu vào bình cầu chứa 30 ml nước. Pha loãng thành 50 ml với nước. Lấy 20 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp A.

Bari

Lấy 10 ml dung dịch S₁, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng* (TT). Sau 30 phút, dung dịch không được đục hơn hỗn hợp chứa 10 ml dung dịch S₁ và 1 ml nước cất.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Pha loãng 10 ml dung dịch S₁ đến 20 ml với nước. Lấy 12 ml dung dịch, tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 0,02 %.

Lấy 8 ml dung dịch S₂, thêm 4 ml nước. Trộn đều và thêm 0,05 ml *nước brom* (TT). Để yên 5 phút, loại brom dư bằng luồng khí. Thêm 3 ml *dung dịch kali thiocyanat* 9,7 %, dung dịch không được có màu đậm hơn màu dung dịch đối chiếu được chuẩn bị trong cùng điều kiện, sử dụng 4 ml *dung dịch sắt mẫu 2 phần triệu* (TT) và 8 ml *dung dịch acid sulfuric* 20 % (TT).

Định lượng

Thêm 300 ml *dung dịch thủy ngân nitrat* 2 % và 2 ml *acid nitric* (TT) vào 300 g *kẽm hạt* (TT), lắc mạnh trong 10 phút và rửa với nước cất. Nhồi hỗn hợp kẽm vào cột thủy tinh dài khoảng 400 mm, đường kính 20 mm có khóa và đĩa lọc. Cho 100 ml *dung dịch acid sulfuric* 1 M (TT) qua cột, sau đó là 100 ml nước cất, lưu ý đảm bảo chất lỏng luôn ngập mặt hỗn hợp. Cho hỗn hợp gồm 100 ml *dung dịch acid sulfuric* 1 M (TT) và 100 ml nước cất sau đó là 100 ml nước cất lần lượt qua cột với tốc độ 3 ml/phút. Dịch rửa giải thu vào bình nón 500 ml có chứa 50,0 ml *dung dịch phèn sắt amoni sulfat* 15 % trong hỗn hợp *acid sulfuric* - nước (1 : 3). Thêm 0,1 ml *dung dịch feroiin sulfat* (TT), chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch amoni*

ceri nitrat 0,1 M (CD) đến khi dung dịch xuất hiện màu xanh lá (n₁ ml). Cho lần lượt hỗn hợp chứa 50 ml *dung dịch acid sulfuric* 1 M (TT) và 50 ml nước cất, 20,0 ml dung dịch S₂, hỗn hợp chứa 50 ml *acid sulfuric loãng* (TT) và 50 ml nước cất, sau cùng là 100 ml nước cất với tốc độ 3 ml/phút. Dịch rửa giải thu vào bình nón 500 ml có chứa 50 ml *dung dịch phèn sắt amoni sulfat* 15 % trong hỗn hợp *acid sulfuric* - nước (1 : 3). Rửa phần cuối cột với nước cất. Thêm 0,1 ml *dung dịch feroiin sulfat* (TT), chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch amoni ceri nitrat* 0,1 M (CD) đến khi dung dịch xuất hiện màu xanh lá (n₂ ml).

Hàm lượng phần trăm TiO₂ được tính bằng công thức:

$$3,99 (n_2 - n_1)/m$$

Trong đó, m là khối lượng (g) chế phẩm dùng để pha dung dịch S₂.

Bảo quản

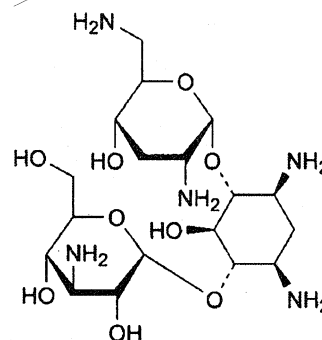
Bao bì kín.

Loại thuốc

Chất bảo vệ, tá dược.

TOBRAMYCIN

Tobramycinum



C₁₈H₃₇N₅O₉

P.t.l: 467,5

Tobramycin là 4-O-(3-amino-3-deoxy-α-D-glucopyranosyl)-2-deoxy-6-O-(2,6-diamino-2,3,6-trideoxy-α-D-ribo-hexopyranosyl)-L-streptamin, được điều chế từ *Streptomyces tenebrarius* hoặc bằng các phương pháp khác, hoạt lực không được ít hơn 930 I.U/mg, tính theo chế phẩm đã làm khô và không chứa 2-methyl-1-propanol.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel* (TT).

Dung môi triển khai: *Methylen clorid - amoniac đậm đặc - methanol* (17 : 33 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg tobramycin chuẩn trong nước và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4,0 mg neomycin sulfat chuẩn và 4,0 mg kanamycin monosulfat chuẩn trong 1 ml dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành:

Chấm riêng rẽ 5 μ l các dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bằng không khí nóng. Phun thuốc thử phát hiện bằng hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch 1,3-dihydroxynaphtalen 0,2 % trong ethanol 96 %* và *dung dịch acid sulfuric 46,0 %*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 phút đến 10 phút.

Trên sắc ký đồ, vết chính thu được từ dung dịch thử phải tương đương về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) có 3 vết chính tách nhau rõ ràng.

B. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 5 ml nước. Thêm tiếp 5 ml *dung dịch ninhydrin 0,1 % trong ethanol 96 %*, và đun trong cách thủy 3 phút. Màu xanh tím xuất hiện.

pH

Từ 9,0 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml nước không có carbon dioxyd (TT).

Góc quay cực riêng

Từ +138° đến +148° (tính theo chất đã làm khan không có 2-methyl-1-propanol) (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Tiến hành theo phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel*.

Dung môi triển khai: *Amoniacc đậm đặc - 2-butanon - ethanol 95 %* (1 : 1 : 1).

Dung dịch thử : Dung dịch 0,80 % chế phẩm trong *dung dịch amoniacc 0,02 M*.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 0,008 % chế phẩm trong *dung dịch amoniacc 0,02 M*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí, làm nóng đến 110 °C trong 10 phút. Phun bản mỏng khi còn nóng với dung dịch được pha ngay trước khi dùng, bằng cách pha loãng *dung dịch natri hypoclorid* (3 % clor) với nước để được dung dịch chứa 0,5 % clor. Làm khô bản mỏng trong luồng

không khí lạnh và khô cho đến khi phản diện tích được phun thuốc thử ở phía dưới vạch chấm sắc ký chỉ cho màu xanh rất nhạt với 1 giọt *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)*; tránh để lâu ngoài không khí lạnh. Phun bản mỏng với *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)*. Bất cứ vết phụ nào xuất hiện trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết thu được của dung dịch thử đối chiếu.

2-Methyl-1-propanol

Không được quá 1,0 % (kl/kl) (Phụ lục 10.14, hệ B).

Nước

Không được quá 8,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,30 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,3 % (Phụ lục 9.9; phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn

Nếu dùng cho sản xuất thuốc tiêm hoặc thuốc nhỏ mắt dạng phân liều, không có thêm giai đoạn tiệt trùng thích hợp trong qui trình sản xuất, chế phẩm phải đạt chỉ tiêu này (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 2,0 I U/mg.

Nếu dùng cho sản xuất dạng pha tiêm theo qui trình không có thêm giai đoạn thích hợp để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn, chế phẩm phải đạt chỉ tiêu này (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Định lượng theo phương pháp xác định hoạt lực kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

Bảo quản

Nếu chế phẩm đã được tiệt khuẩn, phải bảo quản trong lọ kín đã được tiệt khuẩn.

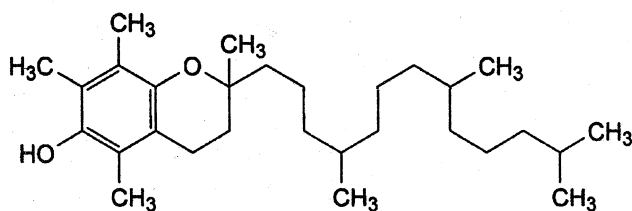
Nhãn

Sản phẩm đạt giới hạn vô khuẩn.

Sản phẩm đạt giới hạn nội độc tố vi khuẩn.

ALL-RAC-ALPHA TOCOPHEROL

Alpha tocopherolum



C₂₉H₅₀O₂

P.t.l: 430,7

All-rac-alpha tocopherol là all-rac-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-6-ol, phải chứa từ 96,0 % đến 101,5 % $C_{29}H_{50}O_2$.

Tính chất

Chất lỏng sánh như dầu, không màu hoặc màu nâu hơi vàng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong acetone, ethanol khan, dicloromethan và trong các dầu béo.

Định tính

Có thể chọn một trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của α -tocopherol chuẩn.

B. Góc quay cực

Từ $-0,01^\circ$ đến $+0,01^\circ$ (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong ethanol khan (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel F_{254} .

Dung môi khai triển: Cyclohexan – ether (80 : 20)

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 2 ml cyclohexan (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg α -tocopherol chuẩn trong 2 ml cyclohexan (TT).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, làm khô bằng luồng không khí và quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí và kích thước tương tự vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2). Dùng phương pháp chuẩn hóa diện tích pic.

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 1,0 g squalan (TT) trong cyclohexan (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 10,0 ml dung dịch chuẩn nội.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 10,0 ml cyclohexan (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,100 g α -tocopherol chuẩn trong 10,0 ml dung dịch chuẩn nội.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg chế phẩm và 10 mg α -tocopheryl acetat (TT) trong cyclohexan (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg chuẩn all-rac- α -tocopherol để định tính pic (chứa các tạp chất A, B và D) trong cyclohexan (TT) và pha loãng thành 1 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 100,0 ml bằng cyclohexan (TT), sau đó

lại pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng cyclohexan (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột: Mao quản, dài 30 m, đường kính 0,25 mm, pha tĩnh là poly(dimethyl)siloxan (TT) (bề dày lớp phim 0,25 μ m).

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký khí với tốc độ dòng 1 ml/min, tỷ lệ chia dòng là 1 : 100.

Nhiệt độ cột là 280 $^\circ$ C, buồng tiêm và detector là 290 $^\circ$ C.

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt 1 μ l dung dịch thử (2) và các dung dịch đối chiếu (2), (3) và (4).

Thời gian chạy sắc ký: Gấp 2 lần thời gian lưu của pic all-rac- α -tocopherol.

Định tính các tạp chất: Dùng sắc ký đồ của chuẩn all-rac- α -tocopherol để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định các pic do các tạp chất A, B, C và D.

Thời gian lưu tương đối so với all-rac- α -tocopherol (thời gian lưu khoảng 13 phút): Squalan khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất C khoảng 1,05 và tạp chất D cũng khoảng 1,05.

Tính thích hợp của hệ thống theo dung dịch đối chiếu (2): Độ phân giải giữa pic all-rac- α -tocopherol và pic α -tocopheryl acetat tối thiểu là 3,5.

Giới hạn:

Tạp chất A: Tối đa 0,5 %.

Tạp chất B: Tối đa 1,5 %.

Tổng tạp chất C và D: Tối đa 1,0 %.

Bất kỳ tạp chất nào khác: Mỗi tạp chất tối đa 0,25 %.

Tổng tất cả các tạp chất: Tối đa 2,5 %.

Giới hạn loại bỏ: Diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,1 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: all-rac-trans-2,3,4,6,7-pentamethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-ol.

Tạp chất B: all-rac-cis-2,3,4,6,7-pentamethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-ol.

Tạp chất C: 4-methoxy-2,3,6-trimethyl-5-[(all-RS,E)-3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-enyl]phenol.

Tạp chất D: (all-RS,all-E)-2,6,10,14,19,23,27,31-octamethyldotriaconta-12,14,18-trien.

Định lượng

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2) như mô tả trong phép thử Tạp chất liên quan. Tiêm dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

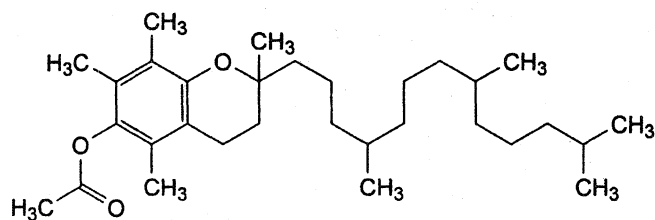
Tính hàm lượng phần trăm $C_{29}H_{50}O_2$ dựa vào hàm lượng công bố trên nhãn của α -tocopherol chuẩn.

Bảo quản

Trong khí trơ, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin.

ALL-RAC-ALPHA TOCOPHERYL ACETAT***Alpha tocopheryli acetat*** $C_{31}H_{52}O_3$

P.t.l: 472,7

All-rac-Alpha tocopheryl acetat là 2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-6-yl acetat, phải chứa từ 96,5 % đến 101,0 % $C_{31}H_{52}O_3$.

Tính chất

Chất lỏng sánh như dầu, trong, không màu hoặc màu vàng hơi ánh lục. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton, trong ethanol khan và trong các dầu béo.

Định tính

Có thể chọn một trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của α -tocopheryl acetat chuẩn.

B. Góc quay cực

Từ $-0,01^\circ$ đến $+0,01^\circ$ (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *ethanol khan* (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel F₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ether* (80 : 20).

Dung dịch thử: Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 2 ml *cyclohexan* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan khoảng 10 mg α -tocopheryl acetat chuẩn trong 2 ml *cyclohexan* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được 2/3 chiều dài của bản mỏng. Lấy bản mỏng ra và làm khô trong luồng không khí. Kiểm tra bản mỏng dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí và kích thước tương tự vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2). Dùng phương pháp chuẩn hóa diện tích pic.

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 1,0 g *squalan* (TT) trong *cyclohexan* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 10,0 ml dung dịch chuẩn nội.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 10,0 ml *cyclohexan* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,100 g α -tocopheryl acetat chuẩn trong 10,0 ml dung dịch chuẩn nội.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg chế phẩm và 10 mg α -tocopherol (TT) trong *cyclohexan* (TT) và pha loãng bằng *cyclohexan* (TT) đủ 100,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg chuẩn all-rac- α -tocopheryl acetat để định tính pic (chứa các tạp chất A, B, E) trong *cyclohexan* (TT) và pha loãng thành 1 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 100,0 ml bằng *cyclohexan* (TT). Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *cyclohexan* (TT).

Điều kiện sắc ký: Cột mao quản, dài 30 m, đường kính 0,25 mm, chất mang *poly(dimethyl)siloxan* (TT) (bề dày phim 0,25 μ m).

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*.

Tốc độ dòng 1 ml/min; tỷ lệ chia dòng là 1 : 100.

Nhiệt độ: Cột 280 $^\circ$ C; buồng tiêm và detector 290 $^\circ$ C.

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Thời gian chạy: Gấp 2 lần thời gian lưu của all-rac- α -tocopheryl acetat.

Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt 1 μ l dung dịch thử (2) và các dung dịch đối chiếu (1), (2), (3) và (4).

Định tính các tạp chất: Dùng sắc ký đồ của chuẩn all-rac- α -tocopheryl acetat để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định các pic của các tạp chất A, B, D, và E.

Thời gian lưu tương đối so với all-rac- α -tocopheryl acetat (thời gian lưu khoảng 15 phút): Squalan khoảng 0,4; tạp chất A khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất D khoảng 1,05 và tạp chất E khoảng 1,05.

Tính thích hợp của hệ thống:

Độ phân giải: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất C và pic của all-rac- α -tocopheryl acetat tối thiểu là 3,5.

Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), diện tích của pic tương ứng với tạp chất C không được lớn hơn 0,2 % so với diện tích của pic tương ứng với all-rac- α -tocopheryl acetat.

Giới hạn:

Các tạp chất A và C: Tối đa mỗi tạp chất không quá 0,5 %.

Tạp chất B: Tối đa 1,5 %.

Tổng tạp chất D và E: Tối đa 1,0 %.

Bất kỳ tạp chất nào khác, mỗi tạp chất tối đa 0,25 %.

Tổng tất cả các tạp chất: Tối đa 2,5 %.

Giới hạn loại bỏ: Diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,1 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: all-*rac-trans*-2,3,4,6,7-pentamethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl acetat.

Tạp chất B: all-*rac-cis*-2,3,4,6,7-pentamethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl acetat.

Tạp chất C: all-*rac*- α -tocopherol.

Tạp chất D: 4-methoxy-2,3,6-trimethyl-5-[(all-*RS,E*)-3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-enyl]phenyl acetat.

Tạp chất E: (all-*RS*,all-*E*)-2,6,10,14,19,23,27,31-octamethyldotriacont-12,14,18-trien.

Định lượng

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2) như mô tả trong phép thử Tạp chất liên quan. Tiêm dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

Tính hàm lượng phần trăm $C_{31}H_{52}O_3$ dựa vào hàm lượng công bố trên nhãn của all-*rac*- α -tocopheryl acetat chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin.

NANG MỀM VITAMIN E

Molles capsulae Vitamini E

Là nang mềm chứa một trong các dạng vitamin E: d- hoặc dl- α -tocopherol ($C_{29}H_{50}O_2$); d- hoặc dl- α -tocopheryl acetat ($C_{31}H_{52}O_3$).

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng vitamin E, từ 95,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Nang mềm, màu đồng nhất, bên trong đựng dầu trong suốt, không có bọt khí.

Định tính

Dung dịch thử cho α -tocopheryl acetat (Dùng dụng cụ thủy tinh tránh ánh sáng): Cân chính xác một lượng thuốc trong nang tương ứng với khoảng 220 mg d- hoặc dl- α -tocopheryl acetat vào bình nón có nút mài 150 ml, cho vào 25 ml *ethanol* (TT) để hòa tan. Thêm 20 ml hỗn hợp gồm *acid sulfuric* (TT) và *ethanol* (TT) (1 : 7) và đun hồi lưu trong 3 giờ trong điều kiện tránh ánh sáng. Làm nguội, chuyển vào bình định mức 200 ml rồi pha loãng bằng hỗn hợp gồm *acid sulfuric* (TT) và *ethanol* (TT) (1 : 72) vừa đủ đến vạch và trộn đều.

A. Chuẩn bị dung dịch chứa một lượng thuốc trong nang tương ứng với khoảng 10 mg α -tocopherol trong 10 ml *ethanol* (TT) hoặc dùng 10 ml dung dịch thử cho α -tocopheryl acetat, vừa lắc vừa thêm

2 ml *acid nitric* (TT), đun nóng khoảng 75 °C trong 15 phút sẽ xuất hiện màu đỏ sáng hoặc cam.

B. Chuẩn bị dung dịch chứa một lượng thuốc trong nang tương ứng với khoảng 100 mg α -tocopherol trong 50 ml *ether* (TT). Đối với α -tocopheryl acetat, lấy 100 ml dung dịch thử cho α -tocopheryl acetat vào bình gạn và thêm 200 ml nước, chiết lần đầu với 75 ml, rồi với 25 ml *ether* (TT), gộp dịch chiết ether vào một bình gạn khác. Thêm vào dịch chiết ether hoặc dung dịch ether ở trên 20 ml dung dịch *kali fericyanid* 10 % trong *dung dịch natri hydroxyd* 0,2 M (TT) và lắc 3 phút. Rửa lớp ether 4 lần, mỗi lần với 50 ml nước, bỏ nước rửa và làm khan dịch ether bằng *natri sulfat khan* (TT). Bốc hơi dịch ether trên cách thủy ở áp suất giảm hoặc trong bầu khí nitơ cho đến khi còn khoảng 7 - 8 ml rồi ngừng cung cấp nhiệt và để ether bốc hơi trong không khí đến khi thu được cặn. Lập tức hòa tan cặn trong 5,0 ml *isooctan* (TT) và tiến hành xác định góc quay cực (Phụ lục 6.4). Tính góc quay cực riêng với C là nồng độ (%) tocopherol trong dung dịch đem thử được xác định từ phần định lượng. Dạng đồng phân d- có góc quay cực riêng không nhỏ hơn +24°, dạng dl- có góc quay cực riêng bằng 0.

C. Trên sắc ký đồ ở phần định lượng, thời gian lưu của pic chính của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol* - nước (49 : 1).

Dung dịch thử: Cân và xác định chính xác khối lượng của 20 nang. Dùng một dao nhọn hay dụng cụ khác mở các nang ra sao cho không bị thất thoát các mảnh vỏ nang. Chuyển toàn bộ lượng thuốc trong nang vào cốc có mỏ 100 ml. Rửa vỏ nang bằng *ether ethylic* (TT) hoặc *n-hexan* (TT), làm khô vỏ nang dưới dòng khí nóng cho tới khi không còn ngửi thấy mùi dung môi, để nguội trong bình hút ẩm. Cân và xác định chính xác khối lượng của 20 vỏ nang, tính khối lượng trung bình thuốc trong nang. Cân chính xác một lượng thuốc trong nang tương đương khoảng 50 mg vitamin E vào bình định mức 50 ml, thêm *ethanol* (TT) vừa đủ, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg vitamin E chuẩn [α -tocopherol ($C_{29}H_{50}O_2$) hoặc α -tocopheryl acetat ($C_{31}H_{52}O_3$)] vào bình định mức 50 ml, thêm *ethanol* (TT) vừa đủ, lắc đều.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 50 mg α -tocopherol chuẩn và 50 mg α -tocopheryl acetat chuẩn trong 50 ml *ethanol* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (15 đến 30 cm $\times$ 4 mm) nhồi pha tĩnh C (5 hoặc 10 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 284 nm

Tốc độ dòng: 1 đến 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành

Tính thích hợp của hệ thống sắc ký:

Tiêm dung dịch phân giải: Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic alpha tocopherol và alpha tocopheryl acetat không nhỏ hơn 2,6.

Tiêm dung dịch chuẩn: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic giữa các lần tiêm nhắc lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 0,8 %.

Tiêm dung dịch thử. Tính hàm lượng vitamin E theo diện tích pic chính của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng vitamin E trong dung dịch chuẩn. Hoạt lực của vitamin E được tính theo đơn vị USP.

1 mg dl-alpha tocopherol = 1,1 đơn vị USP vitamin E
1 mg dl-alpha tocopheryl acetat = 1 đơn vị USP vitamin E

1 mg d-alpha tocopherol = 1,49 đơn vị USP vitamin E

1 mg d-alpha tocopheryl acetat = 1,36 đơn vị USP vitamin E

Bảo quản

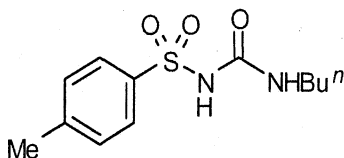
Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

100 IU, 400 IU.

TOLBUTAMID**Tolbutamidum**

$C_{12}H_{18}N_2O_3S$

P.t.l: 270,3

Tolbutamid là 1-butyl-3-[(4-methylphenyl) sulfonyl] ure, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{18}N_2O_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong aceton và ethanol 96 %, khó tan trong ether, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của tolbutamid chuẩn.

B. Điểm chảy từ 126 °C đến 130 °C (Phụ lục 6.7).

C. Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Phổ hấp

thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 245 nm đến 300 nm, có 3 cực đại hấp thụ ở 258 nm, 263 nm, 275 nm và một vai tại 268 nm. Pha loãng 10,0 ml dung dịch trên thành 250,0 ml bằng *methanol* (TT). Đo phổ hấp thụ trong khoảng bước sóng 220 nm đến 235 nm, dung dịch có một cực đại hấp thụ tại 228 nm, giá trị A (1 %, 1 cm) tại 228 nm từ 480 đến 520.

D. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 8 ml *dung dịch acid sulfuric 50 %* (TT) và đun nóng dưới sinh hàn hồi lưu trong 30 phút. Để nguội, thu được các tinh thể, sau khi kết tinh lại từ nước nóng và sấy ở 100 °C đến 105 °C, có điểm chảy (Phụ lục 6.7) từ 135 °C đến 140 °C.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng* (TT) và thêm 5 ml *nước*. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Lấy 2,0 g chế phẩm, thêm 50 ml *nước không có carbon dioxyd* (TT) và đun nóng ở 70 °C trong 5 phút. Làm nguội nhanh và lọc. Dịch lọc có pH từ 4,5 đến 5,5.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Acid formic khan - methanol - cloroform (2 : 8 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *aceton* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 15 mg *toluen sulfonamid* (TT) trong *aceton* (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Thêm 5 ml dung dịch đối chiếu (1) vào 5 ml dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1), 10 µl dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng dưới một luồng khí ẩm và sấy ở 110 °C trong 10 phút. Trong một bình sắc ký khác, đặt một đĩa chứa *dung dịch kali permanganat 5 %* (TT) và thêm cùng một thể tích *acid hydrochloric* (TT). Đặt bản mỏng còn nóng vào bình, đặt nắp. Để bản mỏng tiếp xúc với hơi clor trong 2 phút. Lấy bản mỏng ra và để dưới một luồng không khí lạnh đến khi lượng clor dư bay hết và phần bản mỏng dưới các vết chấm cho màu xanh rất nhạt khi nhỏ lên đó một giọt *dung dịch kali iodid* và *hỗ tinh bột* (TT). Tránh để bản mỏng lâu dưới luồng khí lạnh. Phun *dung dịch kali iodid* và *hỗ tinh bột* (TT) và để yên 5 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết nào ngoài vết chính không được đậm màu hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1)

(0,3 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ rệt.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *aceton* - *nước* (85 : 15) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 2.

Chuẩn bị dung dịch chì mẫu 1 phần triệu bằng cách pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu (TT)* với hỗn hợp *aceton* - *nước* (85 : 15).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,2500 g chế phẩm trong hỗn hợp 20 ml *nước* và 40 ml *ethanol* 96 % (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CD), dùng 1 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT) làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CD) tương đương với 27,03 mg $C_{12}H_{18}N_2O_3S$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, dưới 25 °C.

Loại thuốc

Chống đái tháo đường.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN TOLBUTAMID

Tabellae Tolbutamidi

Là viên nén chứa tolbutamid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng tolbutamid, $C_{12}H_{18}N_2O_3S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng hoặc màu đồng nhất.

Định tính

Lấy một lượng bột viên tương ứng với 1 g tolbutamid, chiết với 10 ml *cloroform* (TT), lọc vào cốc nhỏ, dùng đĩa thủy tinh cọ vào thành cốc để tinh thể hình thành, lọc lấy tinh thể, làm bay hơi dung môi cho tới khô và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 30 phút. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của sản phẩm phù hợp với phổ hồng ngoại của tolbutamid chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch có chứa 2,04 % *dinatri hydrophosphat* và 0,135 % *kali dihydrophosphat*.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để có nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 228 nm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính hàm lượng tolbutamid, $C_{12}H_{18}N_2O_3S$, đã hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 417 làm giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 228 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % lượng tolbutamid, $C_{12}H_{18}N_2O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi triển khai: *Acid formic khan* - *methanol* - *cloroform* (2 : 8 : 90).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g tolbutamid với 10 ml *aceton* (TT), lọc (giấy lọc Whatman số 1).

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch chứa 0,015 % *toluen-p-sulphonamid* (TT) trong *aceton* (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và 10 µl dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 phút, khi bản mỏng còn nóng, đặt vào bình đã có sẵn cốc nhỏ chứa *dung dịch kali permanganat* 5 % (TT) và thêm vào đó một lượng đồng thể tích *acid hydrochloric* (TT); đập nắp bình, để yên bản mỏng trong bình 2 phút, lấy bản mỏng ra đặt trước luồng khí lạnh đến khi khí clor thừa bay hết và phần bản mỏng dưới vạch xuất phát cho màu xanh nhạt với *dung dịch kali iodid - hồ tinh bột* (TT) (không để bản mỏng quá lâu trước luồng khí lạnh). Phun *dung dịch kali iodid - hồ tinh bột* (TT) để yên 5 phút.

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %). Thử nghiệm chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.

Định lượng

Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,5 g tolbutamid, thêm 50 ml

ethanol 96 % (TT) đã được trung hòa trước với dung dịch *phenolphthalein (TT)*, lắc, làm nóng nhẹ trong nồi cách thủy để hòa tan, thêm 25 ml *nước*, chuẩn độ bằng dung dịch *natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, dùng dung dịch *phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị.

1 ml dung dịch *natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương ứng với 27,03 mg $C_{12}H_{18}N_2O_3S$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

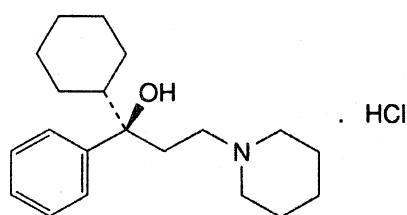
Thuốc chống đái tháo đường loại sulphonylurê.

Hàm lượng thường dùng

0,25 mg; 0,50 mg.

TRIHENYDYPHENIDYL HYDROCLORID

Trihexiphenidyli hydrochloridum



và đồng phân đối quang

$C_{20}H_{31}NO.HCl$

P.t.l: 337,9

Trihexiphenidyli hydrochlorid là (1RS)-1-cyclohexyl-1-phenyl-3-(piperidin-1-yl)propan-1-ol hydrochlorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{20}H_{31}NO.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng. Khó tan trong nước, hơi ít tan trong ethanol 96 % và methylen clorid.

Điểm chảy khoảng 250 °C, kèm theo sự phân hủy.

Định tính

Có thể chọn 1 trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại của trihexiphenidyli hydrochlorid chuẩn.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi triển khai: Diethylamin - hexan (5 : 95).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid (20 : 80)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg trihexiphenidyli hydrochlorid chuẩn trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid (20 : 80)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ 5 μ l mỗi dung dịch lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Làm khô bản mỏng trong không khí, phun bằng dung dịch *acid cloroplatinic 0,01 % pha trong acid hydrocloric 0,4 % (tt/tt)*. Vết chính thu được trên sắc ký đồ từ dung dịch thử phải tương đương về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính thu được trên sắc ký đồ từ dung dịch đối chiếu.

C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *methanol (TT)* nóng và điều chỉnh độ kiềm bằng dung dịch *natri hydroxyd (TT)* đối chiếu với giấy quì đỏ (TT). Tủa tạo thành, sau khi kết tinh lại trong *methanol (TT)*, có điểm chảy khoảng 113 °C đến 115 °C (Phụ lục 6.7).

D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của phép thử định tính ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 5,2 đến 6,2 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 0,5 g chế phẩm bằng cách đun nóng trong 25 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Làm nguội đến nhiệt độ phòng và pha loãng thành 50 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Góc quay cực

Từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid (20 : 80)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Tiến hành theo phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn 200 ml *nước* với 0,2 ml *triethylamin (TT)*. Điều chỉnh pH đến 4,0 bằng *acid phosphoric (TT)* và thêm tiếp 800 ml *acetonitril (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng pha động. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg tạp chất chuẩn A của trihexiphenidyli (ĐC) [1-phenyl-3-(piperidin-1-yl)-propan-1-on] trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (4): Thêm 1,0 ml dung dịch thử vào 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2), pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,15 m × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 μ m).

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Detector: Quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Thời gian rửa giải: Thời gian rửa giải gấp 3 lần thời gian lưu của trihexyphenidyl.

Kiểm tra tính ổn định của hệ thống bằng cách tiêm dung dịch đối chiếu (4). Phép thử có giá trị khi độ phân giải giữa các pic của trihexynidyl và tạp chất A ít nhất là 4,0.

Tiêm dung dịch đối chiếu (1), dung dịch đối chiếu (3) và dung dịch thử. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích pic của tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %). Diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác, không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %). Tổng hàm lượng của tất cả các pic tạp không được lớn hơn 0,5 %.

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,02 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol* 96 % (TT) và thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric* 0,01 M (CD). Tiến hành chuẩn độ theo phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2) dùng *dung dịch natri hydroxid* 0,1M (CD). Lấy giá trị thể tích dung dịch chất chuẩn độ giữa 2 điểm uốn.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (CD) tương đương 33,79 mg $C_{20}H_{32}ClNO$.

Loại thuốc

Điều trị bệnh Parkinson.

Chế phẩm

Viên nén, viên tác dụng kéo dài.

VIÊN NÉN TRIHEXYPHENIDYL

Tabellae Trihexyphenidyl

Là viên nén chứa trihexyphenidyl hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng trihexyphenidyl hydroclorid,

$C_{20}H_{31}NO.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên màu trắng.

Định tính

A. Cân một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 20 mg trihexyphenidyl hydroclorid, thêm 25 ml *cloroform* (TT), lắc kỹ. Lọc và bốc hơi dịch lọc bằng cách làm nóng nhẹ đến còn khoảng 10 ml. Thêm 100 ml *n-hexan* (TT), tua trắng tạo thành. Để yên hỗn hợp trong 30 phút và lấy tua bằng cách lọc qua màng lọc 1 µm. Rửa tua với một lượng nhỏ *n-hexan* (TT) và làm khô tua trong không khí. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tua thu được phải phù hợp với phổ của trihexyphenidyl hydroclorid chuẩn.

B. Tua thu được trong phép thử A cho phản ứng đặc trưng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

C. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic trihexyphenidyl hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường: 900 ml dung dịch đệm acetat pH 4,5 được chuẩn bị bằng cách hòa tan 2,99 g *natri acetat* (TT) và 1,66 ml *acid acetic băng* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml, thu được dung dịch có pH $4,50 \pm 0,05$.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Dung dịch xanh bromocresol: Hòa tan 250 mg *xanh bromocresol* (TT) trong hỗn hợp gồm 15 ml nước và 5 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M, pha loãng bằng môi trường hòa tan vừa đủ 500 ml. Chiết 250 ml dung dịch trên 2 lần, mỗi lần 100 ml *cloroform* (TT) và loại bỏ dịch chiết cloroform.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc và bỏ 20 ml dịch lọc đầu.

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị dung dịch của trihexyphenidyl hydroclorid chuẩn trong môi trường hòa tan có cùng nồng độ với dung dịch thử.

Tiến hành: Lấy chính xác một thể tích dung dịch thử có chứa 50 µg trihexyphenidyl hydroclorid vào ống ly tâm 50 ml. Thêm 5,0 ml dung dịch xanh bromocresol và 10,0 ml *cloroform* (TT), đậy nắp ống ly tâm và lắc mạnh không dưới 20 giây. Ly tâm để hỗn hợp phân lớp hoàn toàn, hút và loại bỏ lớp nước phía trên. Lọc lớp cloroform qua giấy lọc. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng có hấp thụ cực đại khoảng 415 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là đồng thể tích môi trường hòa tan và được tiến hành như với dung dịch thử. Tính toán hàm lượng trihexyphenidyl hydroclorid, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, hòa tan trong mỗi viên dựa theo dung dịch chuẩn được tiến hành tương tự như dung dịch thử.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % lượng trihexyphenidyl hydroclorid, $C_{20}H_{31}NO.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 phút.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp *acetonitril* - *nước* - *triethylamin* (920 : 80 : 0,2) được điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *acid phosphoric* (TT).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng trihexyphenidyl hydroclorid chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,2 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg trihexyphenidyl vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động và lắc siêu âm 5 phút. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (8 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của trihexyphenidyl hydroclorid chuẩn, tính hàm lượng trihexyphenidyl hydroclorid, C₂₀H₃₁NO.HCl, có trong một đơn vị chế phẩm.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.

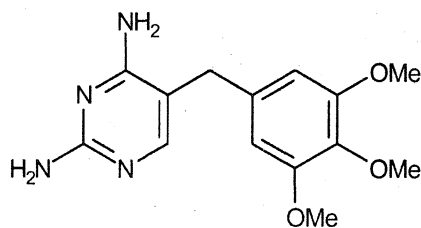
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Điều trị bệnh Parkinson.

Hàm lượng thường dùng

2 mg, 5 mg.

TRIMETHOPRIM**Trimethoprimum**

C₁₄H₁₈N₄O₃

P.t.l: 290,3

Trimethoprim là 2,4 diamino-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl) pyrimidin, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % C₁₄H₁₈N₄O₃, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng hoặc trắng hơi vàng. Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, hơi tan trong cloroform, thực tế không tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của trimethoprim chuẩn.

B. Hòa tan khoảng 25 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid sulfuric* 0,005 M (TT) (đun nóng nếu cần), thêm 2 ml *dung dịch kali permanganat* 1,6 % trong *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (TT). Đun sôi và cho vào dung dịch nóng này 0,4 ml *dung dịch formaldehyd* (TT). Trộn đều, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric* 0,5 M, trộn và đun sôi. Làm lạnh và lọc. Thêm vào dịch lọc 2 ml *methylen clorid* (TT), lắc mạnh. Lọc hữu cơ có huỳnh quang xanh lục khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.

C. Điểm chảy của chế phẩm phải từ 199 °C đến 203 °C (Phụ lục 6.7).

D. Hòa tan khoảng 20 mg chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (TT). Tiến hành đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch trong khoảng 230 nm đến 350 nm. Dung dịch cho một cực đại hấp thụ ở 287 nm và A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại từ 240 đến 250.

Màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml hỗn hợp *methylen clorid* - *methanol* - *nước* (5 : 4,5 : 1). Dung dịch thu được không được có màu đậm hơn màu mẫu VN₇ (Phụ lục 9.3. Phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,2 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - nước - acid formic khan (85 : 10 : 5 : 2).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong hỗn hợp nước - methanol - cloroform (1 : 4,5 : 5) vừa đủ thành 5 ml dung dịch.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 10 ml, rồi lấy 1 ml dung dịch này pha thành 50 ml bằng hỗn hợp dung môi như ở dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình sắc ký không bão hòa đến khi dung môi đi được 17 cm. Làm khô bản mỏng bằng một luồng khí lạnh trong 5 phút rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Đặt vào đáy bình sắc ký một đĩa (để bay hơi clor) có chứa một hỗn hợp *dung dịch acid hydrochloric 7 M - nước - dung dịch kali permanganat 1,5 % (1 : 1 : 2)*, đáy bình và để 15 phút. Đặt bản mỏng đã làm khô vào và đáy bình để cho bản mỏng tiếp xúc với hơi clor trong 5 phút. Lấy bản mỏng ra và đuổi khí clor thừa bằng một luồng khí lạnh cho đến khi nhỏ một giọt *dung dịch kali iodid - hồ tinh bột (TT)* vào vùng chất hấp phụ phía dưới điểm xuất phát thì không còn cho màu xanh. Phun lên bản mỏng *dung dịch kali iodid - hồ tinh bột (TT)* rồi quan sát dưới ánh sáng thường.

Trong cả hai lần quan sát, dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm trước khi xử lý với clor cũng như dưới ánh sáng ban ngày sau khi phun thuốc thử, thì bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử đều không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 29,03 mg $C_{14}H_{18}N_4O_3$.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN COTRIMOXAZOL

Tabellae Cotrimoxazoli

Viên nén Cotrimoxazol là viên nén chứa trimethoprim và sulfamethoxazol theo tỷ lệ 1 trên 5 (tính theo khối lượng).

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng trimethoprim, $C_{14}H_{18}N_4O_3$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng sulfamethoxazol, $C_{10}H_{11}N_3O_3S$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Viên nén màu trắng.

Định tính

A. Lọc lớp nước thu được trong phản định lượng trimethoprim. Thêm vào dịch lọc từng giọt *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)* đến vừa đủ để acid hóa dịch lọc và chiết với 50 ml *ether (TT)*. Rửa lớp ether với 10 ml *nước*, sau đó lắc với 5 g *natri sulfat khan (TT)*. Lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô bằng cất quay. Hòa tan cặn trong một lượng tối thiểu *dung dịch natri carbonat 5 % (TT)* và thêm vào dung dịch thu được từng giọt *dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT)* đến khi kết tủa hoàn toàn. Lọc, rửa qua cặn thu được bằng *nước* và sấy khô cặn ở 105 °C. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của sulfamethoxazol.

B. Thêm 30 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* vào một lượng bột viên có chứa khoảng 50 mg trimethoprim, lắc đều. Chiết hỗn dịch thu được hai lần, mỗi lần với 50 ml *cloroform (TT)*. Gộp các dịch chiết cloroform và rửa hai lần, mỗi lần với 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, tiếp theo rửa với 10 ml *nước*. Lắc dịch chiết thu được với 5 g *natri sulfat khan (TT)*. Lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô bằng cất quay. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của trimethoprim.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - dimethylformamid (100 : 10 : 5).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương đương 0,4 g sulfamethoxazol với 20 ml *methanol (TT)* và lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch sulfamethoxazol chuẩn 2 % trong *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch trimethoprim chuẩn 0,4 % trong *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng và phun *thuốc thử kali iodobismuthat loãng (TT)*. Nếu chưa quan sát được các vết sắc ký, sấy bản mỏng ở 100 °C trong 5 đến 10 phút. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử cho hai vết chính, một vết tương ứng với vết thu được từ dung dịch đối chiếu (1) và vết kia tương ứng với vết thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Định lượng

Trimethoprim: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg trimethoprim, thêm 30 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, lắc đều và chiết hỗn dịch thu được bốn lần, mỗi lần với 50 ml *cloroform (TT)*. Rửa mỗi dịch chiết hai lần, mỗi lần với 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, sử dụng lại các dung dịch natri hydroxyd 0,1 M đã dùng để rửa dịch chiết đầu cho các

lần rửa tiếp theo. Giữ lại lớp nước để dùng cho phản ứng A của phần định tính. Gộp các dịch chiết cloroform thu được và chiết tiếp bốn lần, mỗi lần với 50 ml dung dịch acid acetic 1 M (TT). Gộp các dịch chiết acid, rửa dịch chiết gộp này với 5 ml cloroform (TT) và pha loãng dịch chiết thu được đến vừa đủ 250,0 ml bằng dung dịch acid acetic 1 M (TT). Lấy chính xác 10,0 ml dung dịch này, thêm 10 ml dung dịch acid acetic 1 M (TT) và pha loãng đến vừa đủ 100,0 ml với nước. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 271 nm. Tính hàm lượng trimethoprim, $C_{14}H_{18}N_4O_3$, trong mỗi viên dựa vào A (1 %, 1 cm). Lấy 204 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 271 nm.

Sulfamethoxazol: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,25 g sulfamethoxazol, thêm 50 ml nước và 15 ml dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT), lắc kỹ để hòa tan hoàn toàn. Tiến hành chuẩn độ bằng nitrit (Phụ lục 10.4).

1 ml dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ) tương đương với 25,33 mg $C_{10}H_{11}N_3O_3S$.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

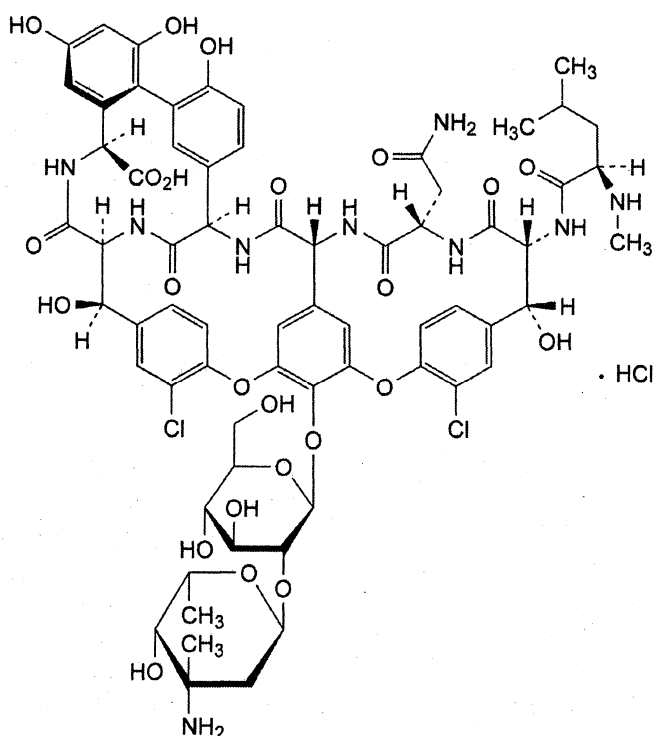
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

80 mg trimethoprim và 400 mg sulfamethoxazol.

VANCOMYCIN HYDROCLORID

Vancomycini hydrochloridum



$C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24} \cdot HCl$

P.t.l: 1486,0

Vancomycin hydroclorid là muối hydroclorid của hỗn hợp các glycopeptid có liên quan với nhau, chủ yếu dưới dạng mono hydroclorid của (3*S*,6*R*,7*R*,22*R*,23*S*,26*S*,*aS*,36*R*,38*aR*)-3-(2-amino-2-oxoethyl)-44-[[2-*O*-3-amino-2,3,6-trideoxy-3-*C*-methyl- α -*L*-lyxo-hexopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]oxy]-10,19-dicloro-7,22,28,30,32-pentahydroxy-6-[[[(2*R*)-4-methyl-2-(methylamino)-penta-noyl]amino]-2,5,24,38,39-pentaoxo-2,3,4,5,6,7,23,24,25,26,36,37,38,38a-tetradecahydro-22*H*-8, 11,18, 21-dietheno-23,36-(iminomethano)-13,16:31,35-dime-theno-1*H*,13*H*-[1,6,9]oxadiazacyclo-hexadecino[4,5-*m*][10,2,16]benzoxadiazacyclotetracosin-26-carboxylic acid (vancomycin B). Vancomycin hydroclorid được điều chế từ một số loài *Amycolaptosis orientalis* hoặc bằng phương pháp khác. Hoạt lực không được ít hơn 1050 IU/mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Kiểm tra sắc ký đồ thu được trong phép thử Vancomycin B. Thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) tương đương với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng A của phép thử định tính ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên đo ở bước sóng 450 nm không được lớn hơn 0,10.

pH

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. pH của dung dịch phải từ 2,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Vancomycin B

Không được ít hơn 93,0 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Thêm 1996 ml nước vào 4,0 ml triethylamin (TT) và chỉnh pH đến 3,2 với acid phosphoric (TT). Lấy 920 ml dung dịch vừa pha, thêm 10 ml tetrahydrofuran (TT) và 70 ml acetonitril (TT).

Pha động B: Thêm 1996 ml nước vào 4,0 ml triethylamin (TT) và chỉnh pH đến 3,2 với acid phosphoric (TT). Lấy 700 ml dung dịch vừa pha, thêm 10 ml tetrahydrofuran (TT) và 290 ml acetonitril (TT).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch thử (3): Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử (2) thành 20,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5,0 mg vancomycin hydroclorid chuẩn trong 4 ml nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Đun nóng ở 65 °C trong 24 giờ. Để nguội.

Dùng các dung dịch này trong vòng 4 giờ sau khi pha chế.

Điều kiện sắc ký:

Cột: cột thép không gỉ (0,25 m × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt bước sóng ở 280 nm.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Rửa giải cột khởi đầu với pha động A. Sau 13 phút, tiến hành rửa giải gradient tăng dần nồng độ pha động B khoảng 11 % (v/v) cho mỗi phút. Cuối cùng, rửa giải cột trong 4 phút, bằng pha động B.

Tiêm dung dịch thử (3). Phép thử chỉ có giá trị khi pic chính trong sắc ký đồ thu được có giá trị tỉ số giữa tín hiệu và nhiễu nền nhỏ nhất là 5. Tiêm dung dịch thử (2). Phép thử này chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic vancomycin tối đa là 1,6. Tiêm dung dịch đối chiếu. Phép thử này chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic chính ít nhất là 5,0. Tiêm dung dịch thử (1).

Tính kết quả hàm lượng phần trăm vancomycin B hydroclorid theo công thức sau:

$$\frac{A_b \times 100}{A_b + (A_t/25)}$$

Trong đó:

A_b là diện tích pic vancomycin B trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2);

A_t là tổng diện tích tất cả các pic tạp chất trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1).

Tạp chất liên quan

Kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), như mô tả trong thử nghiệm vancomycin B.

Tiêm riêng rẽ dung dịch thử (1), dung dịch thử (2) và dung dịch thử (3).

Tính hàm lượng phần trăm cho mỗi tạp chất bằng công thức sau:

$$\frac{(A_t/25) \times 100}{A_b + (A_t/25)}$$

Trong đó:

A_t là diện tích pic của tạp chất trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1);

A_b là diện tích pic vancomycin B trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2);

A_t là tổng diện tích tất cả các pic tạp chất trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1).

Hàm lượng các chất không phải là các tạp chất như mô tả phải lớn hơn 4,0 % và hàm lượng tạp chất toàn phần không được nhiều hơn 7,0 %. Không tính đến những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử (3).

Kim loại nặng

Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8). Dùng 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3.

Dùng 3,0 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,5 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng làm nguyên liệu để bào chế thuốc tiêm mà không có giai đoạn tiệt khuẩn trong qui trình sản xuất, chế phẩm phải đạt chỉ tiêu về độ vô khuẩn (Phụ lục 15.4).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,25 IU/mg (Phụ lục 13.2). Nếu dự định dùng làm nguyên liệu để bào chế thuốc tiêm phân liều mà không có giai đoạn loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thích hợp trong qui trình sản xuất, chế phẩm phải đạt chỉ tiêu về nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp xác định hoạt lực kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9). Dùng vancomycin hydroclorid chuẩn làm chất đối chiếu.

Bảo quản

Bảo quản trong chai lọ kín, tránh ánh sáng. Nếu đã được tiệt trùng trước, phải bảo quản trong chai lọ kín và vô trùng.

Nhãn

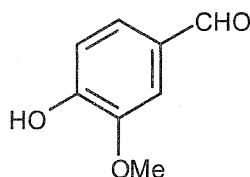
Nhãn ghi rõ chế phẩm đã được tiệt trùng, không có nội độc tố vi khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, thuốc nang.

VANILIN**Vanilinum**C₈H₈O₃

P.t.l: 152,1

Vanilin là 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyd, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % C₈H₈O₃, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột tinh thể hay tinh thể hình kim, màu trắng hay vàng nhạt.

Khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 % và methanol, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B.

Nhóm II: A, C, D.

A. Điểm chảy của chế phẩm phải từ 81 °C đến 84 °C (Phụ lục 6.7).

B. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của vanilin chuẩn.

C. Trong phép thử Tạp chất liên quan, quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường sau khi phun thuốc thử hiện màu. Vết chính của dung dịch thử (2) phải có vị trí, màu sắc và kích thước giống với vết chính của dung dịch đối chiếu (1).

D. Thêm 0,2 ml *dung dịch sắt (III) clorid* 10,5 % (TT) vào 5 ml dung dịch bão hòa chế phẩm, màu xanh lam xuất hiện. Đun nóng đến 80 °C, dung dịch trở nên nâu. Để nguội, có tủa trắng tạo thành.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong ethanol 96 % (TT) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu N6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,5 %.

Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄ (TT).

Dung môi khai triển: Acid acetic khan - methanol - methylen clorid (0,5 : 1 : 98,5).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 5 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg vanilin chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 5 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai trong bình không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 10 cm. Để khô bản mỏng trong luồng khí lạnh. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu (2). Phun dung dịch *dinitrophenylhydrazin-aceto-hydrocloric* (TT) và quan sát dưới ánh sáng thường: Bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu (2).

Phản ứng với acid sulfuric

Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml acid sulfuric (TT). Sau 5 phút, dung dịch không được đậm màu hơn màu của hỗn hợp gồm 4,9 ml dung dịch gốc màu vàng và 0,1 ml dung dịch gốc màu đỏ hoặc hỗn hợp gồm 4,9 ml dung dịch gốc màu vàng và 0,1 ml dung dịch gốc màu xanh (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; trong bình hút ẩm; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,120 g chế phẩm trong 20 ml ethanol 96 % (TT) và thêm 60 ml nước không có carbon dioxyl (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CD) tương đương với 15,21 mg C₈H₈O₃.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

VASELIN**Vaselinum album**

Vaselin là một hỗn hợp các hydrocarbon lấy từ dầu mỏ, đã được tinh chế và tẩy màu.

Tính chất

Vaselin là một chất nhờn quánh mà độ đặc loãng tùy thuộc vào nhiệt độ của môi trường, màu trắng ngà, lớp mỏng thì trong suốt hầu như không màu, có huỳnh quang nhẹ dưới ánh sáng ban ngày khi ở trạng thái tan chảy. Chế phẩm gần như khan.

Tan chảy ở nhiệt độ 36 °C đến 60 °C. Ở trạng thái tan chảy có thể hòa trộn theo mọi tỷ lệ với methylen clorid.

Hầu như không tan trong nước và ethanol, tan trong cloroform, ether. Các dung dịch vaselin có thể đục lờ.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm, xác định dưới dạng màng mỏng trên một phiến kính halogenid, phải có các cực đại hấp thụ ở các bước sóng 2950 cm^{-1} , 2920 cm^{-1} , 2850 cm^{-1} , 1460 cm^{-1} , 1375 cm^{-1} , 725 cm^{-1} và 715 cm^{-1} . Để đo cần phải làm một màng mỏng trên một phiến kính halogenid sao cho độ truyền qua ở 2915 cm^{-1} là 5 %.

B. Làm tan chảy 2 g chế phẩm để được một pha đồng nhất, thêm 2 ml nước và 0,2 ml dung dịch iod 0,1 N. Đun nóng cho đến khi nhận được hai pha lỏng và lắc đều. Sau khi để nguội lớp ở trên đặc lại và có màu tím hồng.

Tính đồng nhất

Duy trì ở nhiệt độ 20 °C, tức là dưới điểm chảy của chế phẩm trong 1 giờ, chế phẩm vẫn ở trạng thái đồng nhất.

Giới hạn acid

Thêm 20 ml nước sôi vào 10 g chế phẩm và lắc thật mạnh trong 1 phút. Để nguội và gạn lấy lớp nước. Thêm 0,1 ml dung dịch phenolphthalein (TT) vào 10 ml nước vừa gạn ra, dung dịch không màu. Màu của chỉ thị phải chuyển sang hồng khi thêm không quá 1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ).

Chất dễ carbon hóa

Cho 0,5 g chế phẩm vào một ống nghiệm có nút mài. Thêm 20,0 ml acid sulfuric (TT). Đun cách thủy trong 10 phút, cứ 2 phút lắc một lần khoảng 5 giây. Để nguội rồi rót sang một bình gạn thật khô. Để yên 10 phút. Rút lấy lớp dưới và lọc nếu cần qua phễu xốp số 4. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng từ 400 nm đến 450 nm dùng acid sulfuric (TT) làm mẫu trắng. Độ hấp thụ không được lớn hơn 0,40.

Độ hấp thụ

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong hexan (TT) và pha loãng thành 200,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng từ 250 nm đến 275 nm và từ 300 nm đến 350 nm, độ hấp thụ lần lượt không được quá 0,20 và 0,05.

Chỉ số xà phòng hóa

Không được lớn hơn 2 (Phụ lục 7.7).

Dùng 2,00 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

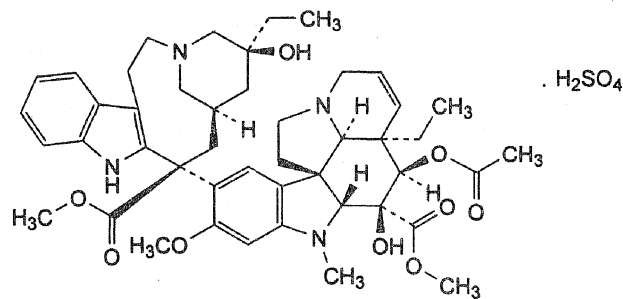
Dùng 4,0 g chế phẩm.

Bảo quản

Đựng trong đồ đựng kín, ở chỗ mát.

VINBLASTIN SULFAT

Vinblastini sulfas



$\text{C}_{46}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_9 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$

P.t.l: 909,0

Vinblastin sulfat là methyl (3aR,4R,5S, 5aR,10bR, 13aR)-4-(acetyloxy)-3a-ethyl-9 -[(5S,7R,9S)-5-ethyl-5-hydroxy-9-(methoxycarbonyl)-1,4,5,6,7,8,9,10-octahydro-2H-3, 7-methanoazacycloundecino[5,4-b]indol-9-yl]-5-hydroxy-8-methoxy-6-methyl-3a,4,5,5a,6,11,12, 13a-octahydro-1H-indolizino [8,1-cd]carbazol-5-carboxylat sulfat, phải chứa từ 95,0 % đến 104,0 % $\text{C}_{46}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_9 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc hơi vàng nhạt, rất dễ hút ẩm.

Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của vinblastin sulfat chuẩn.

B. Trong phép thử Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

pH

Pha loãng 3 ml dung dịch S thành 10 ml bằng nước không có carbon dioxyl (TT), dung dịch thu được phải có pH từ 3,5 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Trong phép thử Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử: diện tích của bất kỳ pic phụ nào đều không

được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %); tổng diện tích của các pic phụ không lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (5,0 %) và bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 15,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,050 g; chân không; 105 °C; 2 h).

Định lượng

Định lượng theo phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch diethylamin 1,5 % (tt/tt) đã được điều chỉnh đến pH 7,5 bằng acid phosphoric - acetonitril (50 : 38 : 12).

Dung dịch thử: Pha loãng 1,0 ml dung dịch S thành 5,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg vinblastin sulfat chuẩn trong nước để được 5,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 50,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 20,0 ml bằng nước.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 1,0 mg vincristin sulfat chuẩn trong 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản các dung dịch trên trong nước đá trước khi dùng.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm x 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm) (cột Zorbax C8 là thích hợp).

Cột bảo vệ được nhồi silica gel thích hợp nằm giữa buồng tiêm và cột phân tích.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 262 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm mỗi dung dịch trên và ghi sắc ký đồ cho đến thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic tương ứng với vinblastin.

Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa các pic tương ứng với vincristin và vinblastin trong sắc ký đồ của dung dịch phân giải ít nhất là 4 và tỷ số giữa tín hiệu và nhiễu đường nền của pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) ít nhất là 5.

Tính hàm lượng phần trăm của $C_{46}H_{58}N_4O_9 \cdot H_2SO_4$ dựa theo diện tích của pic chính của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của vinblastin sulfat chuẩn.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm phân liều mà không tiến hành tiệt khuẩn nữa thì phải đáp ứng phép thử này (Phụ lục 13.7).

Bảo quản

Đựng trong bình thủy tinh kín, tránh ánh sáng và bảo quản ở nhiệt độ không quá -20 °C. Nếu chế phẩm là vô khuẩn thì phải đựng trong bình thủy tinh vô khuẩn, đầy thật kín để tránh nhiễm vi khuẩn. Trên nhãn cần ghi rõ chế phẩm là vô khuẩn hay không.

Loại thuốc

Chống ung thư.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM VINBLASTIN SULFAT

Vinblastini sulfatis pro Iniectione

Bột pha tiêm vinblastin sulfat là bột vô trùng và tá dược (nếu có) đóng trong lọ thủy tinh kín, vô trùng.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng vinblastin sulfat, $C_{46}H_{58}N_4O_9 \cdot H_2SO_4$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột màu trắng.

Định tính

A. Trong phép thử Tạp chất liên quan, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (1) phải tương đương với thời gian lưu của pic vinblastin sulfat trên sắc ký đồ của dung dịch (3).

B. Lấy một lượng chế phẩm tương đương khoảng 1 mg vinblastin sulfat cho vào ống nghiệm, thêm 0,2 ml *dung dịch vanilin 1 % trong acid hydrocloric đậm đặc (TT)* vừa mới pha, sẽ xuất hiện màu hồng sau khoảng 1 phút (phân biệt với vincristin sulfat).

C. Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương khoảng 5 mg vinblastin sulfat trong 2 ml nước, dung dịch cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).

pH

Hòa tan một lượng chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) để được dung dịch có nồng độ vinblastin sulfat khan 0,15 %. pH của dung dịch phải từ 3,5 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Độ trong của dung dịch

Hòa tan bột thuốc trong một lọ chế phẩm với 10 ml nước không có carbon dioxyd (TT), dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2).

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp của 12 thể tích acetonitril, 38 thể tích *dung dịch diethylamin 1,5 % (tt/tt)* đã được điều

chỉnh tới pH 7,5 bằng *acid phosphoric* (TT) và 50 thể tích *methanol* (TT).

Dung dịch (1): Hòa tan chế phẩm trong nước để được dung dịch vinblastin sulfat khan 0,1 %.

Dung dịch (2): Dung dịch có chứa 0,10 % vinblastin sulfat chuẩn và 0,10 % vincristin sulfat chuẩn trong nước.

Dung dịch (3): Dung dịch vinblastin sulfat chuẩn 0,10 % trong nước.

Dung dịch (4): Dung dịch vinblastin sulfat chuẩn 0,0020 % trong nước.

Dung dịch (5): Dung dịch vinblastin sulfat chuẩn 0,00010 % trong nước.

Tất cả các dung dịch trên phải để lạnh trong nước đá trước khi sử dụng.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tinh B (5 μm) (cột Zorbax C8 là thích hợp).

Cột bảo vệ được nhồi silica gel thích hợp đặt ở giữa hệ thống bơm và bộ phận tiêm mẫu.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 262 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic vinblastin và pic vincristin trên sắc ký đồ của dung dịch (2) ít nhất là 4 và tỷ số giữa tín hiệu trên nhiều của pic trên sắc ký đồ của dung dịch (5) ít nhất là 5.

Tiến hành sắc ký với dung dịch (1) trong khoảng thời gian bằng 3 lần thời gian lưu của pic vinblastin. Trên sắc ký đồ của dung dịch (1), diện tích của bất kỳ pic phụ nào cũng không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (4) (2 %) và tổng diện tích các pic phụ không lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (4) (5 %). Loại bỏ bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (5) (0,1 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 17,0 % (Phụ lục 9.6).

(60 °C, áp suất không quá 0,7 kPa, 16 h).

Định lượng

Hòa tan bột thuốc trong một lọ chế phẩm với một thể tích *methanol* (TT) thích hợp để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,004 % vinblastin sulfat khan. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 267 nm, dùng mẫu trắng là *methanol* (TT).

Tính hàm lượng của vinblastin sulfat, $C_{46}H_{58}N_4O_9 \cdot H_2SO_4$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 185 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 267 nm hoặc tiến hành song song với dung

dịch chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng điều kiện.

Thực hiện như vậy trên 9 lọ nữa. Hàm lượng vinblastin sulfat, $C_{46}H_{58}N_4O_9 \cdot H_2SO_4$, trong chế phẩm được tính theo hàm lượng trung bình từ 10 kết quả định lượng trên.

Độ đồng đều hàm lượng

Từ kết quả thu được ở mục định lượng, hàm lượng vinblastin sulfat, $C_{46}H_{58}N_4O_9 \cdot H_2SO_4$ trong mỗi lọ phải từ 90,0 % đến 110,0 % của hàm lượng trung bình và không quá 1 lọ trong số 10 lọ định lượng có hàm lượng từ 80,0 % đến 120,0 % của hàm lượng trung bình.

Bảo quản

Nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc

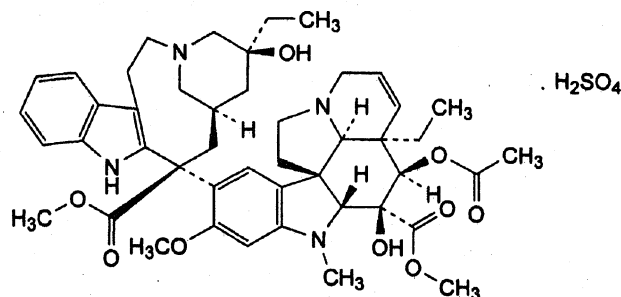
Điều trị ung thư.

Hàm lượng thường dùng

10 mg.

VINCRIPTIN SULFAT

Vincristini sulfas



$C_{46}H_{56}N_4O_{10} \cdot H_2SO_4$

P.t.l: 923,1

Vincristin sulfat là methyl (3aR,4R,5S,5aR,10bR,13aR) - 4-(acetyloxy)-3a-ethyl-9-[(5S,7R,9S) -5-ethyl-5-hydroxy- 9-(methoxycarbonyl)-1,4,5,6,7,8,9,10-octahydro-2H-3,7-methanoazacy-cloundecino [5,4-b]indol-9-yl]-6-formyl-5-hydroxy-8-methoxy-3a,4,5,5a,6,11,12,13a-octahydro-1H-indo-lizino[8,1-cd]carbazol-5-carboxylat sulfat, phải chứa từ 95,0 % đến 104,0 %

$C_{46}H_{56}N_4O_{10} \cdot H_2SO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc hơi vàng nhạt, rất dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của vincristin sulfat chuẩn.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành

10,0 ml bằng cùng dung môi. Dung dịch S được bảo quản trong nước đá để tiến hành phép thử Tạp chất liên quan.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V₇ (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

pH

Pha loãng 2 ml dung dịch S thành 10 ml bằng nước không có carbon dioxyl (TT), dung dịch thu được phải có pH từ 3,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động:

Pha động A: Dung dịch diethylamin 1,5 % (tt/tt) đã được điều chỉnh đến pH 7,5 bằng acid phosphoric (TT).

Pha động B: Methanol (TT).

Dung dịch thử: Pha loãng 1,0 ml dung dịch S thành 5,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg vincristin sulfat chuẩn trong nước để được 5,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 20,0 ml bằng nước.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 1,0 mg vinblastin sulfat chuẩn trong 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản các dung dịch trên trong nước đá trước khi dùng.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 μm) (cột Zorbax C8 là thích hợp).

Tiền cột được nhồi pha tĩnh B.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 297 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành: Tiêm mỗi dung dịch trên theo chương trình ở bảng sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 12	38	62
12 - 27	38 → 8	62 → 92
27 - 29	8 → 38	92 → 62
29 - 34	38	62

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải có độ phân giải giữa pic vincristin và vinblastin ít nhất là 4. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử diện tích của bất kỳ pic phụ nào đều không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %); tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (5,0

%). Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,0500 g; chân không; 105 °C; 2 h).

Định lượng

Định lượng theo phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) như chỉ dẫn trong phần “Tạp chất liên quan”, với những thay đổi như sau:

Pha động: Methanol - dung dịch diethylamin 1,5 % (tt/tt) đã được điều chỉnh đến pH 7,5 bằng acid phosphoric (7 : 3).

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Tính hàm lượng phần trăm của C₄₆H₅₆N₄O₁₀. H₂SO₄ theo diện tích của pic chính của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng đã biết của vincristin sulfat chuẩn.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm phân liều mà không tiến hành tiệt khuẩn nữa thì phải đáp ứng phép thử này (Phụ lục 13.7).

Bảo quản

Đựng trong bình thủy tinh kín, tránh ánh sáng và bảo quản ở nhiệt độ không quá -20 °C. Nếu chế phẩm là vô khuẩn thì phải đựng trong bình thủy tinh vô khuẩn, đậy thật kín để tránh nhiễm vi khuẩn. Trên nhãn cần ghi rõ chế phẩm là vô khuẩn hay không.

Loại thuốc

Chống ung thư.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM VINCRISTIN SULFAT

Vincristini sulfatis pro Injectione

Bột pha tiêm vincristin sulfat là bột vô trùng vincristin sulfat đóng trong lọ thủy tinh kín, vô trùng. Có thể có tá dược.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng vincristin sulfat, C₄₆H₅₆N₄O₁₀.H₂SO₄, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột màu trắng.

Định tính

A. Trong phép thử Tạp chất liên quan, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (1) phải có cùng thời gian lưu với pic vincristin sulfat trên sắc ký đồ của dung dịch (3).

B. Lắc một lượng chế phẩm tương đương khoảng 1 mg vincristin sulfat khan với 3 ml *cloroform* (TT), lọc và rửa giấy lọc với 2 ml *cloroform* (TT). Tập hợp dịch lọc và dịch rửa, làm bay hơi cloroform đến gần ở nhiệt độ khoảng 40 °C. Thêm 0,2 ml *dung dịch vanilin 1 % trong acid hydrocloric đậm đặc* (TT) mới pha vào cần, sẽ xuất hiện màu cam sau khoảng 1 phút (phân biệt với vinblastin sulfat).

Độ trong của dung dịch

Hòa tan bột thuốc trong một lọ chế phẩm với 10 ml *nước không có carbon dioxyd* (TT), dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2).

Tạp chất liên quan

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp của 30 thể tích *dung dịch diethyl-amin 1,5 % (tt/tt)* đã được điều chỉnh tới pH 7,5 bằng *acid phosphoric* (TT) và 70 thể tích *methanol* (TT).

Dung dịch (1): Hòa tan chế phẩm trong *nước* để được dung dịch 0,10 % vincristin sulfat khan.

Dung dịch (2): Dung dịch có chứa 0,10 % vincristin sulfat chuẩn và 0,10 % vinblastin sulfat chuẩn trong *nước*.

Dung dịch (3): Dung dịch vincristin sulfat chuẩn 0,10 % trong *nước*.

Dung dịch (4): Dung dịch vincristin sulfat chuẩn 0,0020 % trong *nước*.

Dung dịch (5): Dung dịch vincristin sulfat chuẩn 0,00010 % trong *nước*.

Tất cả các dung dịch trên phải để lạnh trong nước đá trước khi sử dụng.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh B (5 μm) (cột Zorbax C8 là thích hợp).

Cột bảo vệ được nhồi silica gel thích hợp đặt ở giữa hệ thống bơm và bộ phận tiêm mẫu.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 297 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký:

Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic vincristin và pic vinblastin trên sắc ký đồ của dung dịch (2) ít nhất là 4 và tỷ số giữa tín hiệu trên nhiều của pic trên sắc ký đồ của dung dịch (5) ít nhất là 5.

Tiến hành sắc ký với dung dịch (1) trong khoảng thời gian bằng 3 lần thời gian lưu của pic vincristin.

Trên sắc ký đồ của dung dịch (1), diện tích của bất kỳ pic phụ nào cũng không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (4) (2 %) và tổng diện tích các pic phụ không lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (4) (5 %). Loại bỏ bất kỳ pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (5) (0,1 %).

Định lượng

Hòa tan bột thuốc trong một lọ chế phẩm với một thể tích *methanol* (TT) thích hợp để thu được dung dịch vincristin sulfat khan có nồng độ khoảng 0,005 %. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 297 nm, dùng mẫu trắng là *methanol* (TT).

Tính hàm lượng của $C_{46}H_{56}N_4O_{10} \cdot H_2SO_4$ theo A (1 %, 1 cm). Lấy 177 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 297 nm hoặc tiến hành song song với dung dịch vincristin sulfat chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng điều kiện.

Thực hiện như vậy trên 9 lọ nữa. Hàm lượng vincristin sulfat, $C_{46}H_{56}N_4O_{10} \cdot H_2SO_4$, trong chế phẩm được tính theo hàm lượng trung bình từ 10 kết quả định lượng trên.

Độ đồng đều hàm lượng

Từ kết quả thu được ở mục định lượng, hàm lượng vincristin sulfat, $C_{46}H_{56}N_4O_{10} \cdot H_2SO_4$ trong mỗi lọ phải từ 90,0 % đến 110,0 % của hàm lượng trung bình và không quá 1 lọ trong số 10 lọ định lượng có hàm lượng từ 80,0 % đến 120,0 % của hàm lượng trung bình.

Bảo quản

Nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc

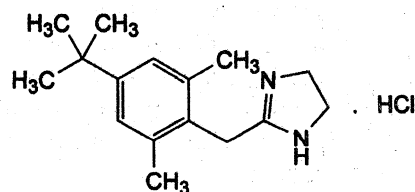
Điều trị ung thư.

Hàm lượng thường dùng

1 mg.

XYLOMETAZOLIN HYDROCLORID

Xylomethazolini hydrochloridum



$C_{16}H_{24}N_2 \cdot HCl$

P.t.l: 280,8

Xylomethazolin hydroclorid là 2-[4-(1,1-dimethyl-ethyl)-2,6-dimethylbenzyl]-4,5-dihydro-1H-imidazol hydroclorid, chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{24}N_2 \cdot HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, trong ethanol 96 % và methanol, thực tế không tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn 1 trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hồng ngoại của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của xylometazolin hydroclorid chuẩn (Phụ lục 4.2).

B. Kiểm tra sắc ký đồ thu được trong phép thử Tạp chất liên quan: Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương đương về vị trí, màu sắc, kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

C. Hòa tan khoảng 0,5 mg chế phẩm trong 1 ml *methanol* (TT), thêm 0,5 ml *dung dịch natri nitroprusiat* 5 % vừa mới pha, thêm tiếp 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd* 2 %. Để yên hỗn hợp trong 10 phút, thêm 1 ml *dung dịch natri bicarbonat* 8 %. Màu tím xuất hiện.

D. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 1 ml *nước*, thêm 2,5 ml *ethanol* 96 % (TT) và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd* 1 M (TT). Trộn đều và quan sát dưới ánh sáng UV 365 nm. Dung dịch không có huỳnh quang, hoặc có huỳnh quang tương đương với dung dịch mẫu trắng pha trong cùng điều kiện. Phản ứng định tính này chỉ có giá trị khi một dung dịch pha trong cùng điều kiện dùng naphazolin hydroclorid chuẩn thay thế chế phẩm cho huỳnh quang xanh dương rõ rệt.

E. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của phép thử ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyl* (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong suốt (Phụ lục 9.2), và không được có màu đậm hơn màu mẫu V₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyl* (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl* (TT) và 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric* 0,01 M (CĐ). Dung dịch có màu đỏ. Không được dùng quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,01 M (CĐ) để chuyển màu của chất chỉ thị sang màu vàng.

Tạp chất liên quan

Kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - *methanol* (5 : 100).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg xylometazolin hydroclorid chuẩn trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4,0 mg tạp chất chuẩn A của xylometazolin trong *methanol* (TT), và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 50 ml bằng *methanol* (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng rẽ 5 µl mỗi dung dịch lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Để khô bản mỏng. Trong một bình sắc ký khác, đáy bình đặt một đĩa để tạo khí bay hơi có chứa một hỗn hợp *nước - dung dịch acid hydrocloric* 25 % - *dung dịch kali permanganat* 1,5 % (1 : 1 : 2). Đậy kín bình sắc ký, và để yên trong 15 phút. Cho bản sắc ký đã làm khô vào bình sắc ký trên và đậy kín lại. Để bản mỏng tiếp xúc với hơi clor trong 5 phút. Lấy bản mỏng ra ngoài và đặt vào luồng không khí lạnh cho đến khi đuổi hết khí clor dư và lớp silica gel phía dưới vết chấm không được có màu xanh khi nhỏ 1 giọt *dung dịch kali iodid* (TT) và *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid* (TT). Phun bản mỏng với *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid* (TT). Trên sắc ký đồ, vết nào thu được từ dung dịch thử (1) tương ứng với tạp chất A của xylometazolin, không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Bất cứ vết nào trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1), khác với vết chính, và vết tương ứng với tạp chất A của xylometazolin không được đậm màu hơn so với vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: *N*-(2-aminomethyl)-2-[4-(1,1-dimethylethyl)-2,6-dimethylphenyl]acetamid.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, Phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 25 ml *acid acetic khan* (TT) và thêm 10 ml *anhydrid acetic* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CĐ), xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CĐ) tương đương với 28,08 mg C₁₆H₂₅ClN₂.

Bảo quản

Bảo quản tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Đồng vận alpha-adenoceptor.

Chế phẩm

Thuốc nhỏ mũi.

THUỐC NHỎ MŨI XYLOMETAZOLIN**Nasalia Xylometazolini**

Thuốc nhỏ mũi xylometazolin là dung dịch xylometazolin hydroclorid trong nước, có thể có thêm tá dược thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mũi và thuốc xịt mũi dạng lỏng" (Phụ lục 1.15) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng xylometazolin hydroclorid,

$C_{16}H_{24}N_2.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

pH

Từ 5,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - isopropylamin (92 : 3 : 3).

Dung dịch đối chiếu: Cân chính xác một lượng xylometazolin hydroclorid chuẩn hòa tan trong nước để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml. Lấy 10 ml dung dịch thu được, cho vào một bình gạn có dung tích thích hợp, thêm 2 ml dung dịch natri carbonat 10 % (TT) và chiết với 10 ml cloroform (TT). Lọc dịch chiết qua natri sulfat khan (TT). Bốc hơi trên cách thủy tới khô. Hòa tan cân trong 1 ml hỗn hợp đồng thể tích cloroform (TT) và methanol (TT).

Dung dịch thử: Lấy 10 ml chế phẩm, cho vào một bình gạn có dung tích thích hợp, thêm 2 ml dung dịch natri carbonat 10 % (TT) và chiết với 10 ml cloroform (TT). Lọc dịch chiết qua natri sulfat khan (TT). Bốc hơi trên cách thủy tới khô. Hòa tan cân trong 1 ml hỗn hợp đồng thể tích cloroform (TT) và methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 5 μ l mỗi dung dịch lên bản mỏng. Để khô vết chấm. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều cao của bản mỏng. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun dung dịch paranitrobenzendiazon tetrafluoroborat 5 %. Sau đó phun dung dịch natri carbonat 10 % (TT).

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng xylometazolin hydroclorid chuẩn, hòa tan trong nước để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,5 mg/ml. Lấy chính xác 10,0 ml dung dịch thu được, cho vào một bình gạn dung tích 125 ml, thêm 10 ml nước và 10 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT). Chiết 3

lần, mỗi lần với 10 ml methylen clorid (TT). Gạn bỏ lớp methylen clorid. Thêm 10 ml dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT) vào bình gạn. Tiếp tục chiết 3 lần, mỗi lần với 15 ml methylen clorid (TT). Gộp dịch chiết, lọc qua bông thủy tinh vào một bình định mức dung tích 50 ml. Thêm methylen clorid (TT) đến định mức, trộn đều.

Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương đương khoảng 5 mg xylometazolin hydroclorid, cho vào một bình gạn dung tích 125 ml. Tiếp tục tiến hành như với dung dịch chuẩn, bắt đầu từ "thêm 10 ml nước và 10 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)".

Cách tiến hành: Hút chính xác 5 ml dung dịch chuẩn và 5 ml dung dịch thử, cho vào hai bình định mức dung tích 10 ml riêng biệt. Bốc hơi trên cách thủy ở nhiệt độ 40 °C với dòng khí nitơ tới khi khô. Hòa tan cân thu được với 0,5 ml ethanol (TT). Đồng thời, cho 0,5 ml ethanol (TT) vào bình thứ 3 để làm mẫu trắng. Thêm vào cả 3 bình, mỗi bình 0,5 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT). Lắc kỹ. Thêm vào mỗi bình 5 ml dung dịch natri nitroprussid 0,5 % (TT), trộn đều. Sau 10 phút, thêm vào mỗi bình 1,0 ml dung dịch bão hòa natri hydrocarbonat (TT), lắc mạnh, để yên trong 10 phút. Thêm nước cho đủ 10 ml, trộn đều và để yên trong 15 phút. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch trên ở bước sóng 565 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng mẫu trắng đã chuẩn bị như trên. Tính hàm lượng xylometazolin hydroclorid, $C_{16}H_{24}N_2.HCl$, trong chế phẩm dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{16}H_{24}N_2.HCl$ trong dung dịch chuẩn.

Bảo quản

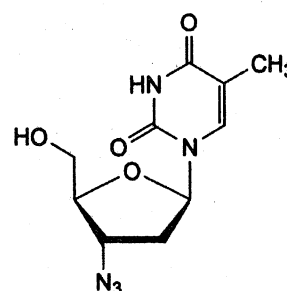
Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Tán huyết, chống sung huyết mũi.

Nồng độ thường dùng

0,025 % và 0,05 %.

ZIDOVUDIN**Zidovudinum**

$C_{10}H_{13}N_5O_4$

P.t.1: 267,2

Zidovudin là 1-(3-azido-2,3-dideoxy- β -D-erythro-pentofuranosyl)-5-methylpyrimidin-2,4-(1*H*,3*H*)-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 102 % $C_{10}H_{13}N_5O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng hoặc ánh nâu. Hơi tan trong nước, tan trong ethanol. Điểm chảy khoảng 124 °C. Dạng vô định hình.

Định tính

Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của zidovudin chuẩn. Nếu phổ thu được từ dạng rắn có sự khác biệt, tiến hành hòa tan chế phẩm và chất chuẩn riêng rẽ trong một lượng tối thiểu nước sau đó bay hơi đến khô trong bình hút ẩm dưới áp suất giảm và có mặt của *diphosphor pentoxyl* (TT). Ghi và so sánh phổ mới của các cần thu được.

Màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 50 ml nước, đun nóng nếu cần thiết. Màu của dung dịch thu được không được đậm hơn màu mẫu VN₅ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ +60,5° đến +63,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong ethanol (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Dùng dung dịch thu được đo ở 25 °C.

Tạp chất liên quan

A. Kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi triển khai: *Methanol - methylen clorid* (10 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg mỗi chất sau đây: thymine (TT), tạp chất đối chiếu A của zidovudin, triphenylmethanol (TT) trong methanol (TT), thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100 ml bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10 ml với methanol (TT).

Cách tiến hành:

Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng UV 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: vết phụ tương ứng với tạp chất A của zidovudin không được đậm màu hơn vết tương ứng trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %), và bất

cứ vết phụ nào khác ngoài vết chính, và các vết tương ứng với tạp chất A của zidovudin, thymine (chất này được kiểm tra giới hạn bằng sắc ký lỏng) đều không được đậm màu hơn vết tương ứng zidovudin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Phun bản mỏng với dung dịch vanillin 1 % pha trong acid sulfuric. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, vết tương ứng với triphenylmethanol không được đậm màu hơn vết tương ứng thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Thử nghiệm chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) có 4 vết tách biệt rõ ràng tương ứng với thymine, tạp chất A của zidovudin, zidovudin, và triphenylmethanol theo thứ tự R_f tăng dần.

B. Kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lỏng

Tiến hành theo mô tả trong phần định lượng.

Tiêm riêng rẽ 10 μ l mỗi dung dịch: Dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (2), dung dịch đối chiếu (4) và dung dịch đối chiếu (5). Thực hiện sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1). Khi sắc ký đồ ghi được trong điều kiện như mô tả, các chất xuất hiện theo thứ tự thymine, zidovudin, tạp chất B của zidovudin. Trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1): diện tích của bất cứ pic nào tương ứng với thymine không được lớn hơn diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (2 %); diện tích của pic tương ứng với tạp chất B của zidovudin không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (1 %); diện tích của bất cứ pic phụ nào khác, không được lớn hơn diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu (5) (0,5 %). Tổng diện tích của tất cả các pic khác với pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) không được lớn hơn 6 lần diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu (5) (3,0 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 10 % so với diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (5).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu, dùng 1,0 g chế phẩm tiến hành thử nghiệm (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 4).

Dùng 2 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,25 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol - nước* (20 : 80).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg zidovudin chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg *thymine* (TT) trong *methanol* (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg tạp chất chuẩn B của zidovudin trong 25,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng 0,25 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,25 m × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt bước sóng ở 265 nm.

Cách tiến hành:

Ổn định cột với pha động ở tốc độ dòng 1,2 ml/min trong 45 phút.

Tiêm 10 μl dung dịch đối chiếu (3). Điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ thu được không nhỏ hơn 70 % của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic của zidovudin và tạp chất B ít nhất bằng 1,0. Tiêm dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (1). Điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của pic trên sắc ký đồ thu được không nhỏ hơn 50 % của thang đo.

Tính hàm lượng của $C_{10}H_{13}N_5O_4$ từ diện tích của các pic và từ hàm lượng của zidovudin trong dung dịch đối chiếu (1).

Ghi chú:

Tạp chất A: 1-[(2*R*,5*S*)-5-(hydroxymethyl)-2,5-dihydrofuran-2-yl]-5-methyl-pyrimidin-2,4-(1*H*,3*H*)dion.

Tạp chất B: 1-(3-cloro-2,3-dideoxy-β-*D*-*erythro*-pentofuranosyl)-5-methyl-pyrimidin-2,4-(1*H*,3*H*)dion.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng virus.

Các chuyên luận
VẮC XIN, HUYẾT THANH
VÀ SINH PHẨM

BIOSUBTYL**Định nghĩa**

Biosubtyl là chế phẩm men tiêu hóa sống có công dụng điều trị rối loạn tiêu hóa sau khi sử dụng kháng sinh, trị tiêu chảy, viêm đại tràng. Thành phần chủ yếu của Biosubtyl là vi khuẩn *Bacillus subtilis* ở dạng bào tử (spore) và vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus*. Khi vào ruột, bào tử phát triển thành vi khuẩn hoạt động và phát huy tác dụng điều trị.

Sản xuất

Chủng *B. subtilis* và *L. acidophilus* phải có nguồn gốc rõ ràng.

Chủng vi khuẩn được cấy vào môi trường canh thang và thạch dinh dưỡng thích hợp để tăng sinh. Thu hoạch sinh khối vi khuẩn, làm khô, thêm tá dược, đóng gói, kiểm định chất lượng sản phẩm, xuất xưởng.

Nhận dạng

Biosubtyl có dạng bột, màu trắng ngà, khô.

Cấy vào môi trường canh thang: Vi khuẩn mọc thành vầng trên bề mặt, màu vàng da cam, canh thang trong, có một ít cặn ở dưới đáy.

Cấy lên môi trường thạch (thạch thường):

B. subtilis: Vi khuẩn mọc thành khuẩn lạc dạng R, màu vàng nhạt, có màu da cam sau 48 giờ ở 30 °C đến 35 °C, bờ đều có tâm đậm và hơi cao ở giữa.

L. acidophilus: Vi khuẩn mọc thành khuẩn lạc dạng R, bờ nhẵn nhéo, nhầy, dính, màu trắng, núm nhỏ lồi lên và màu xám.

Nhuộm soi

B. subtilis là trực khuẩn Gram dương, đôi khi xếp thành chuỗi, có nha bào hình bầu dục. *L. acidophilus* là trực khuẩn Gram dương, không sinh nha bào, thường xếp thành chuỗi 2 đến 3 tế bào hoặc nằm riêng rẽ.

An toàn

Cân chính xác 5 g Biosubtyl, thêm dung dịch nước muối sinh lý vừa đủ 10 ml, lắc đều cho đến khi tan hoàn toàn.

Chọn 10 chuột nhắt trắng Swiss trọng lượng $20 \text{ g} \pm 2 \text{ g}$ (5 con cho mẫu chứng và 5 con cho mẫu thử), mỗi con được đánh dấu và ghi trọng lượng Po.

Dùng bơm tiêm và kim cong chuyên dụng đưa dung dịch Biosubtyl vào dạ dày chuột với liều 0,5 g/ml/con. Chuột chứng được cho uống nước muối sinh lý vô khuẩn với liều 1 ml/con. Theo dõi và cân trọng lượng từng chuột hàng ngày trong 7 ngày.

Tiêu chuẩn: Sinh phẩm đạt yêu cầu khi chuột tăng cân và không có triệu chứng bất thường.

Công hiệu

Công hiệu của Biosubtyl được thể hiện bằng độ sống, tức là số lượng vi khuẩn *B. subtilis* sống và *L. acidophilus* sống trong 1 g sinh phẩm.

Cân 10 g Biosubtyl cho vào bình tam giác đã chứa sẵn 90 ml nước muối sinh lý vô khuẩn, lắc đều với bi thủy tinh (ta có độ pha 10^{-1}). Pha loãng bậc 10 bằng nước muối sinh lý để có độ pha loãng từ 10^{-2} đến 10^{-8} .

Lấy chính xác 0,5 ml các dung dịch có nồng độ từ 10^{-4} đến 10^{-8} cấy vào đĩa thạch đã chuẩn bị trước, mỗi nồng độ 2 đĩa, láng đều và ủ ở nhiệt độ 37 °C trong 24 giờ.

Sau 24 giờ, đếm số khuẩn lạc của mỗi chủng vi khuẩn mọc trên mỗi đĩa thạch (từ độ pha loãng cao nhất đến độ pha loãng thấp nhất). Tính giá trị trung bình ($\bar{X}$) của mỗi chủng vi khuẩn ở mỗi độ pha.

Tính độ sống

$$\text{Độ sống} = \bar{X} \times \text{Số lần pha loãng}$$

Tiêu chuẩn chấp thuận: Sinh phẩm đạt yêu cầu về công hiệu khi trong 1 g sinh phẩm có 10^7 - 10^8 vi khuẩn *B. subtilis* và 10^7 - 10^8 vi khuẩn *L. acidophilus*.

Tính thuần khiết

Không có các loại vi khuẩn gây bệnh và *E. coli*. Tổng số vi khuẩn hiếu khí và tạp nhiễm không quá 500 CFU/g. Tổng số nấm men, mốc không quá 100 CFU/g.

pH (của dung dịch)

6,0 đến 7,5 (Phụ lục 15.33).

Cách dùng

Biosubtyl được dùng để điều trị loạn khuẩn đường ruột, tiêu chảy, táo bón. Trẻ từ 10 tuổi và người lớn uống 2 gói đến 4 gói mỗi ngày với nước đun sôi để nguội. Trẻ em dưới 10 tuổi uống 1 gói đến 2 gói mỗi ngày, hòa tan trong sữa hoặc nước sôi để nguội.

Đóng gói

Biosubtyl có thể được đóng gói với các dạng: Viên nang, bao nhôm kín, viên dập.

Hạn dùng

Tùy theo từng nhà sản xuất.

Bảo quản

Phải bảo quản ở nơi khô, nhiệt độ thích hợp nhất là từ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

GLOBULIN MIỄN DỊCH NGƯỜI***Immunoglobulinum humanum normale*****Định nghĩa**

Globulin miễn dịch người là chế phẩm dạng lỏng hoặc đông khô có chứa các globulin miễn dịch, chủ yếu là IgG từ huyết tương người bình thường.

Globulin miễn dịch ở dạng lỏng là dung dịch trong suốt, không màu hoặc có màu nâu-vàng nhạt.

Globulin miễn dịch đông khô là bột màu trắng hoặc vàng nhạt, có dạng khối xốp, mịn.

Globulin miễn dịch người không đặc hiệu được chỉ định dùng để điều trị phòng ngừa nhiễm viêm gan A, viêm gan B, sởi, rubella... hoặc trong các trường hợp bị thiếu hụt globulin gamma, các trường hợp đang điều trị ức chế miễn dịch, bị nhiễm trùng nhưng kháng thuốc kháng sinh.

Sản xuất

Globulin miễn dịch được điều chế từ huyết tương của tối thiểu 1000 người. Huyết tương nguồn có thể được chiết tách trực tiếp từ máu người hoặc từ huyết tương đông băng có chứa không ít hơn 0,1 đơn vị kháng độc tố bạch hầu hoặc kháng độc tố uốn ván và không ít hơn 0,25 đơn vị kháng thể kháng sởi.

Phần có chứa globulin miễn dịch lớp G được phân tách bằng phương pháp sắc ký cột sao cho không làm hỏng các cấu trúc kháng thể, đảm bảo ngăn ngừa sự lan truyền của các virus viêm gan và các vi sinh vật khác, nồng độ của globulin miễn dịch phải đạt 50 g/l với nhiều loại kháng thể khác nhau và ít nhất 2 trong số đó (một loại kháng vi khuẩn và một loại kháng virus) phải có nồng độ cao hơn tối thiểu gấp 3 lần so với nồng độ ban đầu. Các chất bảo quản kháng vi sinh vật hoặc chất ổn định có thể được sử dụng nhưng không được làm ảnh hưởng đến hiệu giá của các kháng thể.

Nhận dạng

Nhận dạng Globulin miễn dịch có nguồn gốc từ huyết tương người:

Globulin miễn dịch người được nhận dạng qua thử nghiệm kết tủa bằng cách sử dụng các kháng huyết thanh đặc hiệu đối với protein huyết tương người.

Tiêu chuẩn đánh giá: Mẫu thử nghiệm phải có phản ứng dương tính với kháng huyết thanh đặc hiệu đối với người và phải có phản ứng âm tính với kháng huyết thanh đặc hiệu của loài khác.

Nhận dạng Globulin miễn dịch lớp G (IgG):

Sử dụng kháng huyết thanh đặc hiệu kháng huyết thanh người để so sánh giữa huyết thanh người bình thường và mẫu thử nghiệm bằng kỹ thuật điện di miễn dịch.

Tiêu chuẩn đánh giá: Thành phần chính của mẫu thử nghiệm phải tương ứng với thành phần IgG của huyết thanh người bình thường.

Hiệu giá

Hiệu giá của kháng độc tố bạch hầu hoặc kháng độc tố uốn ván

Hiệu giá của kháng độc tố bạch hầu: Phụ lục 15.15.

Hiệu giá của kháng độc tố uốn ván: Phụ lục 15.16.

Tiêu chuẩn đánh giá: Hàm lượng kháng độc tố bạch hầu hoặc kháng độc tố uốn ván không nhỏ hơn 2 IU/ml mẫu thử nghiệm.

Hiệu giá của kháng thể kháng sởi

Hiệu giá của kháng thể kháng sởi của globulin miễn dịch người không đặc hiệu được xác định bằng kỹ

thuật trung hòa trên tế bào Vero và tính bằng số đơn vị quốc tế trong 1ml (UI/ml).

Vật liệu:

Mẫu thử nghiệm: Globulin miễn dịch người.

Mẫu chuẩn quốc tế.

Huyết thanh bào thai bê.

Tế bào Vero

Virus sởi giảm độc lực để trung hòa.

Môi trường 199 có chứa 2 % huyết thanh bào thai bê.

Trypsin 0,25 %.

Phiên nhựa nuôi tế bào 96 giếng, đáy bằng.

Tiến hành: Tiến hành đồng thời trên 2 phiên cho 1 lần thử nghiệm.

Phiên 1:

Pha loãng mẫu chuẩn và mẫu thử nghiệm với môi trường 199 để có dung dịch chứa 5 IU/ml.

Tiếp tục pha loãng bậc 2 liên tiếp từ dung dịch pha loãng trên của mẫu thử nghiệm và mẫu chuẩn để có các dung dịch 2^{-1} ; 2^{-2} ; 2^{-3} ; ... đến 2^{-12}

Pha virus sởi trung hòa bằng môi trường 199 để có dung dịch chứa 100 CCID₅₀/50 µl (Cell Culture Infectious Dose-Liều gây hủy hoại 50 % tế bào).

Nhỏ 50 µl từ mỗi dung dịch đã pha loãng của mẫu thử nghiệm và mẫu chuẩn ở các độ pha từ 2^{-6} đến 2^{-12} vào 7 giếng theo sơ đồ bố trí trên phiên trước.

Nhỏ 50 µl dung dịch virus trung hòa.

Đề ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO₂ trong vòng 60 phút đến 90 phút.

Chuẩn bị dung dịch tế bào Vero có nồng độ 2×10^5 /ml.

Nhỏ 100 µl dung dịch tế bào vào mỗi giếng.

Đề ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO₂ trong 7 ngày đến 9 ngày.

Theo dõi sự biến đổi tế bào (CPE) của virus sởi dưới kính hiển vi.

Phiên 2:

Hay được gọi là phiên “chứng”, nhằm xác định số CCID₅₀/50 µl được dùng để trung hòa trong thử nghiệm xác định hiệu giá của kháng thể kháng sởi.

Từ dung dịch virus sởi gốc lưu giữ ở âm sâu (≤ -35 °C), pha để có 100 CCID₅₀/50 µl. Dung dịch này được ký hiệu là 10^0 .

Tiếp tục pha loãng bậc 10 từ dung dịch 10^0 để có các độ pha loãng: 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} và 10^{-4} .

Nhỏ 50 µl từ mỗi độ pha loãng virus vào một dãy giếng của phiên.

Đề ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO₂ trong vòng 60 phút đến 90 phút.

Nhỏ 100 µl dung dịch tế bào có nồng độ 2×10^5 /ml.

Đề ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO₂ trong 7 ngày đến 9 ngày.

Theo dõi CPE dưới kính hiển vi.

Tính kết quả:

Tính số CCID₅₀/50 µl để trung hòa trong thử nghiệm.

Tính theo công thức Kaber:

$$\text{Log CCID}_{50} = -\log C - [(\text{Tổng số \% hủy hoại ở các nồng độ} / 100 - 0,5) \times \log d]$$

Trong đó:

CCID₅₀ là liều virus gây hủy hoại 50 % tế bào;

C là nồng độ virus cao nhất dùng trong thử nghiệm;

% biến đổi là tỷ lệ giữa số giếng có sự biến đổi tế bào và tổng số giếng của một độ pha;

d là hệ số (bậc) pha loãng.

Tiêu chuẩn đánh giá: Số CCID₅₀/50 µl phải nằm trong khoảng dao động từ 31 đến 316.

Tính liều bảo vệ 50 % tế bào

Tính theo công thức Karber hoặc Reed-Muench:

$\text{Log ED}_{50} = -\log C - [(\text{Tổng số \% hủy hoại ở các nồng độ}/100 - 0,5) \times \log d]$

Trong đó:

ED₅₀ là liều bảo vệ 50 % tế bào;

C là độ pha loãng thấp nhất của mẫu thử hoặc mẫu chuẩn quốc tế dùng trong thử nghiệm;

% bảo vệ là tỷ lệ giữa số giếng có tế bào được bảo vệ và tổng số giếng của một độ pha;

d là hệ số (bậc) pha loãng.

Tính hiệu giá

$\text{HG (IU/ml)} = (\text{ED}_{50} \text{ của mẫu chuẩn} / \text{ED}_{50} \text{ của mẫu thử nghiệm}) \times 5 \text{ (IU)}$

Tiêu chuẩn đánh giá: Hiệu giá của kháng thể kháng sởi phải không được nhỏ hơn 5 IU/ml globulin miễn dịch người không đặc hiệu.

Hàm lượng globulin miễn dịch G (IgG)

Xác định hàm lượng IgG bằng kỹ thuật điện di (Phụ lục 5.6)

Tiêu chuẩn đánh giá: Không nhỏ hơn 90 % hàm lượng protein tổng.

Tính tan

Globulin miễn dịch người đông khô phải tan hoàn toàn trong vòng 20 phút ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C sau khi được hoàn nguyên theo hướng dẫn ghi trên nhãn của sản phẩm.

An toàn chung

Phụ lục 15.11.

Chất gây sốt

Phụ lục 15.12.

Vô khuẩn

Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Nitơ toàn phần

Phụ lục 15.18.

Thimerosal

Không lớn hơn 0,012 % (Phụ lục 15.29).

pH

6,4 đến 7,2 (Phụ lục 15.33).

Đóng gói, bảo quản

Tùy theo nhà sản xuất, trong các lọ thủy tinh không màu, tránh ánh sáng.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

HUYẾT THANH MIỄN DỊCH DÙNG CHO NGƯỜI

Immunosera ad usum humanum

Định nghĩa

Huyết thanh miễn dịch dùng cho người là sinh phẩm có chứa globulin miễn dịch có khả năng trung hòa kháng nguyên đặc hiệu.

Sản xuất

Huyết thanh miễn dịch thu được từ động vật hoặc từ người đã được gây miễn dịch. Huyết thanh miễn dịch phải được tinh chế để lượng globulin đạt theo quy định và để loại bỏ các protein không cần thiết.

Có thể cho thêm chất bảo quản vào thành phẩm.

Trong huyết thanh miễn dịch dạng đông khô, độ ẩm tồn dư không được quá 3 % (kl/kl).

Huyết thanh miễn dịch dạng lỏng phải không có màu hoặc màu vàng nhạt, không có cặn. Huyết thanh miễn dịch dạng đông khô phải dễ hòa tan thành dung dịch không màu hoặc màu vàng nhạt, có cùng đặc tính như sản phẩm ở dạng lỏng.

Các thử nghiệm kiểm định

pH

6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Protein ngoại lai

Chỉ có protein của loài động vật hoặc người dùng để sản xuất huyết thanh miễn dịch (Phụ lục 15.10).

Protein tổng số

Không quá 170 g/l (Phụ lục 15.18).

Albumin

Chỉ được ở dạng vết khi phát hiện bằng phương pháp điện di miễn dịch.

Chất bảo quản

Thimerosal: Không quá 0,02 % (Phụ lục 15.29).

Phenol: Không quá 0,25 % (Phụ lục 15.28).

Độ vô khuẩn

Có thể thực hiện bằng kỹ thuật nuôi cấy trực tiếp hoặc kỹ thuật nuôi cấy màng lọc (Phụ lục 15.7).

Tiêu chuẩn: Không có vi khuẩn hoặc vi nấm mọc trên môi trường thích hợp sau thời gian 14 ngày ở nhiệt độ 30 °C đến 35 °C đối với kiểm tra vi khuẩn và 20 °C đến 25 °C đối với kiểm tra vi nấm.

Công hiệu

Kiểm tra công hiệu được thực hiện theo hướng dẫn đối với mỗi loại huyết thanh miễn dịch và được biểu thị bằng số đơn vị quốc tế (IU) trong 1 ml.

Đơn vị quốc tế: Được xác định theo quy định của Tổ chức Y tế Thế giới.

Tiêu chuẩn: Mỗi loại huyết thanh miễn dịch có tiêu chuẩn công hiệu riêng.

An toàn chung

Dùng 5 chuột nhắt trắng nặng 17 g đến 22 g mỗi con và 2 chuột lang nặng 250 g đến 350 g mỗi con.

Tiêm phúc mạc chuột lượng huyết thanh miễn dịch bằng một liều dùng cho người, nhưng không quá 1 ml cho mỗi chuột nhắt trắng và không quá 5 ml cho mỗi chuột lang (Phụ lục 15.11).

Tiêu chuẩn: Sau ít nhất 7 ngày theo dõi, chuột không giảm cân và không có biểu hiện bệnh lý.

Chất gây sốt

Tiêm với liều từ 0,5 ml đến 10 ml cho 1 kg trọng lượng thỏ tùy theo quy định đối với từng loại huyết thanh miễn dịch (Phụ lục 15.12).

Tiêu chuẩn: Thân nhiệt ban đầu phải nằm trong khoảng 38 °C đến 39,8 °C; hiệu số nhiệt giữa hai lần đo không quá 0,2 °C; thân nhiệt ban đầu giữa các thỏ chênh lệch không quá 1 °C; thân nhiệt cao nhất của thỏ đo được trong khoảng 3 giờ sau khi tiêm là giá trị cần xác định, giá trị này không quá 0,6 °C đối với mỗi thỏ và tổng giá trị của 3 thỏ không quá 1,3 °C (Phụ lục 15.12).

Bảo quản, hạn dùng

Sinh phẩm được giữ ở điều kiện lạnh, nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C. Không làm đông băng huyết thanh miễn dịch dạng lỏng.

Hạn dùng được tính từ khi bắt đầu kiểm tra công hiệu, tùy từng nhà sản xuất và được cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

HUYẾT THANH KHÁNG BẠCH HẦU***Immunoserum diphthericum*****Định nghĩa**

Huyết thanh kháng độc tố bạch hầu là chế phẩm chứa globulin kháng độc tố, có khả năng trung hòa đặc hiệu ngoại độc tố của *Corynebacterium diphtheriae*.

Nhận dạng

Huyết thanh kháng độc tố bạch hầu trung hòa độc tố của *Corynebacterium diphtheriae* làm cho độc tố này trở nên không độc, vô hại đối với động vật cảm thụ.

Các thử nghiệm kiểm định

Huyết thanh kháng bạch hầu phải đáp ứng các thử nghiệm kiểm định ghi trong chuyên luận "Huyết thanh miễn dịch dùng cho người" và các yêu cầu sau đây:

Công hiệu

Công hiệu của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu được thể hiện bằng số đơn vị quốc tế trong 1 ml (IU/ml).

Tiêu chuẩn: Không nhỏ hơn 500 IU/ml.

Xác định công hiệu của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu được thực hiện bằng phương pháp trung hòa trong da thỏ hoặc bằng phương pháp trung hòa trên chuột lang (250 g/con đến 350 g/con) (Phụ lục 15.15).

Bảo quản

Huyết thanh kháng bạch hầu cần được bảo quản trong điều kiện lạnh, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, không để đông băng.

Nhãn

Các thông tin ghi trên nhãn được tuân thủ theo quy định chung ghi trong chuyên luận "Huyết thanh miễn dịch dùng cho người".

HUYẾT THANH KHÁNG DẠI***Serum antirabicum*****Định nghĩa**

Huyết thanh kháng dại là chế phẩm có chứa globulin miễn dịch kháng virus dại, có khả năng trung hòa đặc hiệu virus dại.

Nhận dạng

Huyết thanh kháng dại trung hòa virus dại làm cho virus mất khả năng gây bệnh, trở nên vô hại đối với động vật cảm thụ.

Các thử nghiệm kiểm định

Huyết thanh kháng dại phải đáp ứng các thử nghiệm kiểm định ghi trong chuyên luận "Huyết thanh miễn dịch dùng cho người" và các yêu cầu sau đây:

Protein ngoại lai: Không được có trong thành phẩm.

Công hiệu

Công hiệu của huyết thanh kháng dại được thể hiện bằng số đơn vị quốc tế trong 1 ml (IU/ml).

Tiêu chuẩn: Không nhỏ hơn 150 IU/ml.

Phương pháp xác định số IU/ml của huyết thanh kháng dại được thực hiện bằng phương pháp trung hòa trên chuột nhắt (Phụ lục 15.17). Phản ứng này dựa trên sự trung hòa một liều cố định hiệu giá virus dại thử thách với các độ pha loãng khác nhau của huyết thanh.

Bảo quản

Huyết thanh kháng dại cần được bảo quản trong điều kiện lạnh, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, không để đông băng.

Nhãn

Các thông tin ghi trên nhãn được tuân thủ theo quy định chung, ghi trong chuyên luận "Huyết thanh miễn dịch dùng cho người".

HUYẾT THANH KHÁNG NỘC RẮN

Immunoserum contra venena

Định nghĩa

Huyết thanh kháng nọc rắn là chế phẩm chứa các globulin miễn dịch kháng nọc rắn có khả năng trung hòa đặc hiệu nọc rắn tương ứng.

Huyết thanh kháng nọc rắn ở dạng lỏng là dung dịch không màu, trong suốt hoặc có màu vàng nhạt, hơi nhớt.

Huyết thanh kháng nọc rắn được chỉ định dùng để điều trị bệnh nhân bị rắn cắn.

Sản xuất

Huyết thanh kháng nọc rắn sản xuất từ huyết tương ngựa khỏe mạnh, tuổi từ 4 năm đến 7 năm, cân nặng lớn hơn 200 kg, đã được miễn dịch với kháng nguyên nọc rắn, được tinh chế, cô đặc bằng phương pháp Pope dùng pepsin, có chất bảo quản là merthiolat 1/10000. Sau đó được lọc vô trùng qua màng lọc 0,2 µm, pha chế đến hàm lượng thích hợp và đóng ống.

Nhận dạng

Huyết thanh kháng nọc rắn được nhận dạng thông qua thử nghiệm xác định hiệu giá.

Hiệu giá

Thử nghiệm xác định hiệu giá của huyết thanh kháng nọc rắn được thực hiện trên nguyên lý trung hòa nọc rắn với huyết thanh kháng nọc rắn. Thử nghiệm được thực hiện trên chuột nhắt trắng để xác định LD₅₀ có trong 1 ml huyết thanh.

Phương pháp tiến hành

Vật liệu

Huyết thanh kháng nọc rắn thử nghiệm.

Nọc rắn tinh chế.

Chuột nhắt trắng, trọng lượng 18 g đến 20 g.

Nước muối sinh lý.

Tiến hành

*Xác định LD₅₀ của nọc rắn:

Pha dung dịch nọc rắn gốc: Cân một lượng nọc rắn cần thiết và hòa tan bằng nước muối sinh lý để có dung dịch có nồng độ 1000 µg/ml (bảo quản trong tủ lạnh).

Pha dung dịch nọc rắn thử nghiệm: Từ dung dịch nọc rắn gốc pha loãng bằng nước muối sinh lý để được dung dịch có nồng độ 250 µg/ml hoặc 500 µg/ml (tùy theo độc lực của nọc rắn).

Từ dung dịch nọc rắn thử nghiệm tiến hành pha loãng cách nhau 1,2 hoặc 1,4 lần thành 5 độ pha liên tiếp, sao cho sau khi tiêm độ pha loãng thấp nhất chuột phải chết 100 % và độ pha loãng cao nhất chuột phải

sống 100 % (sau khi pha xong lắc đều và để ở 37 °C trong 30 phút, tránh ánh sáng).

Tiêm tĩnh mạch đuôi chuột với liều 0,5 ml/con. Mỗi độ pha tiêm 6 chuột.

Đọc kết quả sau 24 giờ đến 48 giờ, theo dõi số chuột sống chết trong mỗi độ pha.

Tính kết quả theo công thức Spearman- Karber:

$$\text{Log LD}_{50} = X_o + d/2 - d \times (\sum r_i/n)$$

Trong đó:

X_o là log của độ pha loãng cao nhất của dung dịch nọc rắn gây ra chuột chết 100%;

d là log của bậc pha loãng;

r_i là số chuột chết của mỗi độ pha loãng;

n là số chuột được tiêm của mỗi độ pha loãng.

* Xác định hiệu giá huyết thanh kháng nọc rắn:

Chuẩn bị dung dịch nọc rắn có chứa 20 LD₅₀/ml: Từ dung dịch nọc rắn gốc (1000 µg/ml, giữ ở 4 °C), pha bằng nước muối sinh lý để có dung dịch chứa 20 LD₅₀/ml.

Chuẩn bị huyết thanh kháng nọc rắn thử nghiệm: Huyết thanh thử nghiệm (không pha loãng hoặc pha loãng 2 lần, 3 lần, 4 lần... trong trường hợp huyết thanh kháng nọc rắn có hiệu giá cao trên 200 LD₅₀) được lựa chọn tối thiểu 5 mức thể tích cách nhau liên tiếp 1,2 hoặc 1,4 lần sao cho sau khi trung hòa với một lượng nọc rắn cố định thì mức thể tích cao nhất phải bảo vệ được 100 % số chuột được tiêm và mức thể tích thấp nhất gây chết 100 % số chuột được tiêm.

Trung hòa:

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 2,5 ml dung dịch nọc rắn chứa 20 LD₅₀

Một thể tích thay đổi đã lựa chọn của huyết thanh thử nghiệm.

Một lượng nước muối sinh lý để vừa đủ 5,0 ml trong mỗi ống.

Lắc nhẹ các ống nghiệm, trung hòa ở nhiệt độ 37 °C trong 30 phút, tránh ánh sáng. Tiêm 0,5 ml/chuột vào tĩnh mạch đuôi. Dùng 6 chuột cho mỗi độ pha. Đọc kết quả sau 24 giờ đến 48 giờ.

Tính liều bảo vệ 50 % (ED₅₀) theo công thức Spearman- Kaber:

$$\text{Log ED}_{50} = X_o + d/2 - d \times (\sum r_i/n)$$

Trong đó:

X_o là log của thể tích huyết thanh thử nghiệm ít nhất bảo vệ được 100 % chuột;

d là log của bậc chênh lệch của các mức thể tích khác nhau;

r_i là số chuột chết của mỗi dung dịch trung hòa;

n là số chuột được tiêm của mỗi dung dịch trung hòa.

* Xác định số LD₅₀ trung hòa (nhóm chứng): Từ dung dịch nọc rắn chứa 20 LD₅₀/ml pha loãng 1/20; 1/14; 1/10; 1/7 và 1/5 bằng nước muối sinh lý. Lắc nhẹ các ống, để ở 37 °C trong 30 phút, tránh ánh sáng. Tiêm 0,5 ml/chuột vào tĩnh mạch đuôi. Dùng 6 chuột cho mỗi độ pha. Đọc kết quả: theo dõi số chuột chết trong vòng 48 giờ.

Tính số LD₅₀ trung hòa (tính T) như tính LD₅₀ của nọc rắn ở trên.

* Xác định hiệu giá (hay tính số LD₅₀ có trong 1 ml huyết thanh thử nghiệm):

$$\text{Hiệu giá} = (T-1)/ED_{50}$$

Trong đó:

T là LD₅₀ dùng để trung hòa trong 1 liều tiêm.

ED₅₀ là liều bảo vệ 50 %.

Tiêu chuẩn đánh giá

Thử nghiệm xác định hiệu giá chỉ có giá trị khi T nằm trong khoảng từ 4 đến 6.

Hiệu giá của huyết thanh thử nghiệm phải đạt theo tiêu chuẩn đăng ký của nhà sản xuất.

An toàn chung

Huyết thanh kháng nọc rắn phải đạt yêu cầu về thử nghiệm an toàn chung (Phụ lục 15.11).

Chất gây sốt

Phụ lục 15.12.

Vô khuẩn

Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Nitơ toàn phần

Không lớn hơn 15 % (Phụ lục 15.18).

Thimerosal

Không lớn hơn 0,01 % (Phụ lục 15.29).

Natri clorid

Từ 0,85 % đến 0,9 % (Phụ lục 15.26).

pH

6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Đóng gói, bảo quản

Mỗi lọ đóng từ 2,0 ml đến 5,0 ml hoặc dạng đông khô, tùy theo nhà sản xuất.

Bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

HUYẾT THANH KHÁNG UỐN VÁN

Immunoserum tetanicum ad usum humanum

Định nghĩa

Huyết thanh kháng độc tố uốn ván là chế phẩm có chứa globulin kháng độc tố, có khả năng trung hòa đặc hiệu độc tố của *Clostridium tetani*.

Nhận dạng

Huyết thanh kháng độc tố uốn ván trung hòa đặc hiệu ngoại độc tố của *Clostridium tetani*, làm cho độc tố này trở nên không độc, vô hại đối với động vật cảm thụ.

Các thử nghiệm kiểm định

Huyết thanh kháng độc tố uốn ván phải đáp ứng các thử nghiệm kiểm định ghi trong chuyên luận "Huyết thanh miễn dịch dùng cho người" và các yêu cầu sau đây:

Công hiệu

Công hiệu của huyết thanh kháng độc tố uốn ván được thể hiện bằng số đơn vị quốc tế trong 1 ml (IU/ml).

Tiêu chuẩn: Không nhỏ hơn 1000 IU/ml đối với loại dùng để phòng bệnh; không nhỏ hơn 3000 IU/ml đối với loại dùng để điều trị.

Số IU/ml huyết thanh kháng độc tố uốn ván được xác định bằng phương pháp trung hòa trên chuột nhắt (Phụ lục 15.16).

Bảo quản

Huyết thanh kháng độc tố uốn ván cần được bảo quản trong điều kiện lạnh, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, không để đóng băng.

Nhãn, hộp

Các thông tin ghi trên nhãn được tuân thủ theo quy định chung, được ghi trong chuyên luận chung "Huyết thanh miễn dịch dùng cho người".

INTERFERON ALPHA 2

Inteferoni alfa 2

Định nghĩa

Inteferon alpha 2 là sinh phẩm ở dạng nước hoặc đông khô có chứa inteferon alpha-2 người, tái tổ hợp.

Inteferon alpha 2 dạng nước là dung dịch trong suốt, không màu.

Inteferon alpha 2 đông khô có dạng khối xốp, trắng mịn, dễ hòa tan trong nước thành dung dịch trong suốt.

Inteferon alpha 2 được dùng để kháng virus, ức chế tăng sinh tế bào ung thư và có chức năng điều hòa miễn dịch.

Sản xuất

Inteferon alpha 2 được sản xuất theo công nghệ tái tổ hợp ADN: Gen mã hoá inteferon alpha 2 được tách từ tế bào lympho của người và đưa vào vector biểu hiện; Sau đó vector này được đưa vào vi khuẩn. Vi khuẩn này được nuôi cấy trong môi trường đặc biệt để thu sinh khối và sau đó dùng kỹ thuật sinh hoá tách chiết và tinh sạch inteferon alpha 2. Sản phẩm được đóng ống hoặc đông khô với hàm lượng inteferon alpha 2 khác nhau tùy theo mục đích sử dụng.

Nhận dạng

Inteferon alpha 2 được nhận dạng thông qua sự giảm hoạt tính kháng virus của nó trên tế bào nhiễm sau khi trung hòa với kháng thể đơn dòng kháng inteferon alpha 2.

Vật liệu:

Inteferon alpha 2 thử nghiệm.

Kháng thể đơn dòng kháng inteferon alpha 2.

Tế bào MDBK (Madin-Darby Bovin Kidney - Tế bào thận bò).

Virus gây nhiễm VSV (Vesicular Stomatitis Virus - Virus gây viêm vòm họng) đã chuẩn độ.
Môi trường MEM (Minimum Essential Medium) có chứa huyết thanh bào thai bê (Fetal Bovin Serum, FBS).
Dung dịch Trypsin 0,25 %.
Phiến nhựa vô trùng, 96 giếng, đáy bằng.

Phương pháp tiến hành

Ngày thứ 1:

Pha kháng thể đơn dòng kháng inteferon alpha 2 với môi trường MEM 2 % FBS để có dung dịch chứa 200 IU/ml.

Trộn đều 3 lọ đến 5 lọ mẫu thử nghiệm và pha loãng bằng MEM 2 % FBS để có dung dịch chứa khoảng 200 IU/ml (tùy vào hàm lượng inteferon alpha 2 ghi trên nhãn).

Trung hòa: Trộn đều 1 ml inteferon alpha 2 đã pha loãng ở trên với 1 ml kháng thể đơn dòng kháng inteferon alpha 2. Ủ ở 37 °C trong 60 phút.

Nhỏ 100 µl môi trường MEM 5 % FBS vào tất cả các giếng.

Nhỏ 100 µl dung dịch mẫu thử nghiệm đã pha loãng ở trên vào giếng thứ nhất của phiến (A1). Pha loãng tiếp bậc 2 cho đến hàng giếng thứ 12 (A12), loại bỏ 100 µl ở giếng A12.

Nhỏ 100 µl dung dịch mẫu thử nghiệm đã trung hòa với kháng thể đơn dòng kháng inteferon alpha 2 vào hàng giếng thứ hai của phiến (B1). Pha loãng tiếp bậc 2 cho đến hàng giếng thứ 12 (B12), loại bỏ 100 µl ở giếng B12.

Nhỏ 100 µl dung dịch tế bào MDBK có nồng độ 6×10^5 đến 8×10^5 tế bào/ml vào toàn bộ các giếng.

Phủ giấy dán, đậy nắp phiến và để ở tủ ẩm 37 °C, 5 % CO₂ trong vòng 18 giờ đến 24 giờ.

Ngày thứ 2:

Kiểm tra sự phát triển của tế bào MDBK ở các giếng tế bào chứng, tế bào phải mọc được một lớp kín.

Loại bỏ nước nổi trong tất cả các giếng của phiến.

Pha dung dịch virus gây nhiễm VSV với môi trường MEM 2 % FBS để có chứa 100 đến 200 CCID₅₀/ml.

Nhỏ 100 µl dung dịch virus gây nhiễm VSV này vào tất cả các giếng.

Phủ giấy dán, đậy nắp phiến và để ở tủ ẩm 37 °C, 5 % CO₂ trong vòng 18 giờ đến 24 giờ.

Ngày thứ 3:

Kiểm tra sự hủy hoại của tế bào nhiễm virus dưới kính hiển vi ở các giếng nhỏ dung dịch inteferon alpha 2 sau trung hòa, tỷ lệ hủy hoại tế bào phải đạt trên 90 %.

Nhuộm tế bào với tím gentian. Để phiến khô ở nhiệt độ phòng. Nhỏ 50 µl 2-methoxyethanol vào tất cả các giếng. Lắc nhẹ phiến trên máy lắc trong vòng 10 phút. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 540 nm bằng máy đọc ELISA.

Tiêu chuẩn đánh giá: So sánh độ hấp thụ giữa các giếng tương ứng của 2 loại dung dịch thử nghiệm

trước và sau khi trung hòa với kháng thể đơn dòng kháng inteferon alpha 2: Độ hấp thụ của các giếng sau trung hòa phải nhỏ hơn.

Hiệu giá

Hiệu giá inteferon alpha 2 được xác định bằng chuẩn độ hoạt tính kháng virus của mẫu thử nghiệm trên tế bào MDBK.

Hiệu giá của Inteferon alpha 2 thử nghiệm được tính theo mẫu chuẩn quốc tế inteferon alpha 2 tái tổ hợp.

Vật liệu

Inteferon alpha 2 chuẩn quốc tế

Inteferon alpha 2 thử nghiệm

Tế bào MDBK.

Virus gây nhiễm VSV đã chuẩn độ.

Môi trường MEM có chứa huyết thanh bào thai bê.

Phiến nhựa vô trùng, 96 giếng, đáy bằng.

Phương pháp tiến hành

Ngày thứ 1:

Pha loãng mẫu chuẩn quốc tế với MEM 2 % FBS để có dung dịch chứa 100 IU/ml.

Trộn đều 3 lọ đến 5 lọ mẫu thử nghiệm và pha loãng bằng MEM 2 % FBS để có dung dịch chứa khoảng 100 IU/ml (tùy vào hàm lượng inteferon alpha 2 ghi trên nhãn).

Nhỏ 100 µl môi trường MEM 5 % FBS vào tất cả các giếng.

Nhỏ 100 µl dung dịch đã pha loãng của mẫu chuẩn quốc tế (MCQT) và mẫu thử nghiệm vào mỗi giếng trong cột thứ nhất của phiến. Đối với MCQT nhỏ 2 giếng và mẫu thử nghiệm nhỏ 4 giếng.

Pha loãng bậc 2 liên tiếp cho đến cột thứ 12 thì loại bỏ 100 µl.

Nhỏ 100 µl dung dịch tế bào MDBK có nồng độ $(6-8) \times 10^5$ tế bào/ml vào toàn bộ các giếng.

Phủ giấy dán, đậy nắp phiến và để ở tủ ẩm 37 °C, 5 % CO₂ trong vòng 18 giờ đến 24 giờ.

Ngày thứ 2:

Kiểm tra sự phát triển của tế bào MDBK ở các giếng chứng “tế bào”, tế bào phải mọc được một lớp kín.

Loại bỏ nước nổi trong tất cả các giếng của phiến.

Pha dung dịch virus gây nhiễm VSV với môi trường MEM 2% FBS để có chứa 100 đến 200 CCID₅₀/ml.

Nhỏ 100 µl dung dịch virus gây nhiễm VSV vào tất cả các giếng trừ giếng chứng “tế bào”.

Phủ giấy dán, đậy nắp phiến và để ở tủ ẩm 37 °C, 5 % CO₂ trong vòng 18 giờ đến 24 giờ.

Ngày thứ 3:

Kiểm tra sự hủy hoại của virus đối với tế bào dưới kính hiển vi, ở các giếng chứng “virus” tỷ lệ hủy hoại phải đạt trên 90 %.

Nhuộm tế bào với tím gentian. Để phiến khô ở nhiệt độ phòng. Nhỏ 50 µl 2-methoxyethanol vào tất cả các giếng. Lắc nhẹ phiến trên máy lắc trong vòng 10 phút.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 540 nm bằng máy đọc ELISA.

Tính kết quả:

- Tính độ hấp thụ 50 % theo công thức:

$$A_{50} = (A_c + A_v)/2$$

Trong đó:

A_c là độ hấp thụ trung bình của các giếng chứng “tế bào”;

A_v là độ hấp thụ trung bình của các giếng chứng “virus”.

- Xác định hiệu quả bảo vệ 50 % tế bào của interferon alpha 2 mẫu thử nghiệm và mẫu chuẩn quốc tế theo công thức:

$$N = n + (A_n - A_{50})/(A_n - A_{n+1})$$

Trong đó:

N là số thứ tự của giếng có độ bảo vệ tế bào 50 %;

n là số thứ tự của giếng có độ hấp thụ >50 %;

A_n là độ hấp thụ của giếng thứ “ n ”;

A_{n+1} là độ hấp thụ của giếng thứ “ $n+1$ ”.

- Tính hiệu giá theo công thức:

$$\text{Hiệu giá (\%)} = 100 \times 2^{(N_{tn} - N_s)}$$

Trong đó:

N_{tn} là vị trí giếng mà ở đó interferon alpha 2 thử nghiệm bảo vệ được 50 % tế bào;

N_s là vị trí giếng mà ở đó interferon alpha 2 chuẩn quốc tế bảo vệ được 50 % tế bào.

Tiêu chuẩn đánh giá

Mẫu interferon alpha 2 thử nghiệm chỉ đạt yêu cầu khi hiệu giá tính được phải đạt từ 70 % đến 150 % hàm lượng ghi trên nhãn.

An toàn chung

Với liều tiêm là 15 triệu IU/5 ml đối với 1 chuột lang và 1 triệu IU/0,5 ml đối với 1 chuột nhắt (Phụ lục 15.11).

Chất gây sốt

Mẫu interferon alpha 2 thử nghiệm được pha loãng với nước muối hồi chính, để có nồng độ 600 000 IU/ml (Phụ lục 15.12).

Vô khuẩn

Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Độ ẩm tồn dư (đối với dạng đông khô)

Không lớn hơn 3 % (Phụ lục 15.35).

pH

7,0 ± 0,5 (Phụ lục 15.33).

Đóng gói, bảo quản

Đóng gói: Hàm lượng interferon alpha 2 được đóng gói tùy theo nhà sản xuất: 3 triệu IU/lọ, 4,5 triệu IU/lọ, 6 triệu IU/lọ; 90 µg/lọ, 180 µg/lọ, kèm theo nước hồi chính.

Interferon alpha 2 đông khô phải bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu quy định hiện hành.

TUBERCULIN PPD

Tuberculinum derivatum proteinosum purificatum

Định nghĩa

Tuberculin PPD là sinh phẩm chứa chất có hoạt tính gây phản ứng da đặc hiệu đối với bệnh lao, được điều chế từ canh thang nuôi cấy và ly giải của một hay nhiều chủng *Mycobacterium tuberculosis*.

Tuberculin PPD đông khô có dạng khối xốp, mịn, không teo, màu trắng ngà, không mùi, tan nhanh trong nước hồi chính tạo thành dung dịch trong suốt, không màu.

Dùng tuberculin PPD đông khô là một trong những phương pháp phát hiện các trường hợp bị nhiễm lao hoặc dùng để đánh giá phản ứng quá mẫn muộn đối với lao sau khi tiêm vắc xin BCG.

Sản xuất

Chủng sản xuất được nuôi cấy trong môi trường thích hợp. Sau 6 tuần, chủng đã phát triển, được thu hoạch và giết chết bằng hơi nóng ở nhiệt độ 100 °C trong 60 phút. Hỗn dịch chủng đó được lọc qua màng lọc để loại xác vi khuẩn. Phần đoạn có hoạt tính có trong dung dịch lọc (chủ yếu là protein) được tách chiết bằng kết tủa với amoni sulfat, được rửa và tái hòa tan trong dung dịch đệm phù hợp. Phenol được sử dụng như là chất bảo quản. Sản phẩm được đóng ống vô khuẩn và được đông khô.

Nhận dạng

Thử nghiệm nhận dạng được tiến hành bằng cách tiêm tuberculin thử nghiệm trong da chuột lang đã được gây mẫn cảm trước đó với vắc xin BCG.

Phương pháp tiến hành

Vật liệu

Vắc xin BCG đông khô 1 mg/ml.

Chuột lang 4 con, khỏe mạnh, âm tính với tuberculin, trọng lượng từ 350 g/con đến 400 g/con. Chia chuột ra làm 2 nhóm: Nhóm thử nghiệm được tiêm mẫn cảm với vắc xin BCG đông khô và nhóm chứng không tiêm.

Gây mẫn cảm

Vắc xin BCG đông khô được hoàn nguyên và pha loãng để có nồng độ 0,5 mg/ml. Tiêm dưới da 0,4 ml cho mỗi chuột lang, tại 4 vị trí khác nhau (0,1 ml/vị trí). Chuột lang được theo dõi sau tiêm từ 5 tuần đến 6 tuần.

Tiêm tuberculin

Hoàn nguyên mẫu thử nghiệm để có dung dịch chứa 50 IU/ml. Tiêm trong da 0,1 ml (tương đương 5 IU) cho cả 2 nhóm chuột.

Đọc kết quả

Sau khi tiêm tuberculin 24 giờ, đo đường kính phản ứng tại các vị trí tiêm.

Phản ứng được coi là dương tính nếu đường kính vết tổn thương da lớn hơn hoặc bằng 6 mm.

Tiêu chuẩn đánh giá

Tất cả chuột lang đã được gây mẫn cảm với vắc xin BCG đều phải có phản ứng dương tính với tuberculin thử nghiệm.

Tất cả chuột lang không được gây mẫn cảm với vắc xin BCG đều phải có phản ứng âm tính với tuberculin thử nghiệm.

Hiệu giá

Hiệu giá của tuberculin PPD được xác định bằng cách so sánh phản ứng quá mẫn muộn trong da chuột lang đã gây mẫn cảm với vắc xin BCG sau khi tiêm các độ pha khác nhau của mẫu thử với mẫu chuẩn quốc tế.

Phương pháp tiến hành**Vật liệu**

Tuberculin thử nghiệm.

Tuberculin chuẩn quốc tế.

Chuột lang: 6 con, cùng giới, trọng lượng 350 g/con đến 400 g/con.

Gây mẫn cảm chuột lang

Chuẩn bị 6 chuột lang có lông sáng màu, cùng giới, khỏe mạnh, có trọng lượng từ 350 g/con đến 400 g/con.

Vắc xin BCG đông khô được hoàn nguyên và pha loãng để có nồng độ 0,5 mg/ml. Tiêm dưới da 0,4 ml cho mỗi chuột lang, tại 4 vị trí khác nhau (0,1 ml/ một vị trí). Chuột lang được theo dõi sau tiêm từ 5 tuần đến 6 tuần để xác định hiệu giá.

Xác định hiệu giá

Tuberculin mẫu chuẩn quốc tế và mẫu thử nghiệm được pha loãng với dung dịch đệm PBS ở 3 đến 4 độ pha khác nhau sao cho đường kính phản ứng da sau khi tiêm cho chuột lang đã gây mẫn cảm với liều cao nhất không lớn hơn 25 mm và với liều thấp nhất không nhỏ hơn 6 mm. Tiêm trong da 0,1 ml mỗi độ pha của tuberculin mẫu chuẩn quốc tế và mẫu thử nghiệm ở hai bên sườn chuột lang, mỗi bên 3 điểm. Vị trí nơi tiêm được lựa chọn theo phương pháp hình vuông Latin.

Sau khi tiêm 24 giờ, đo đường kính của phản ứng da tại các vị trí tiêm. Phản ứng được coi là dương tính nếu tại nơi tiêm tuberculin có nốt sần đỏ với đường kính lớn hơn hoặc bằng 6 mm. Phản ứng được coi là âm tính nếu tại nơi tiêm tuberculin có nốt sần đỏ với đường kính nhỏ hơn 6 mm. Hiệu giá của tuberculin thử nghiệm được tính theo chương trình Parallel line của WHO.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Hiệu giá của mẫu thử nghiệm phải nằm trong khoảng 80 % đến 125 % giá trị hiệu giá ghi trên nhãn sản phẩm.

An toàn chung

Đạt yêu cầu về an toàn chung (Phụ lục 15.11).

Vô khuẩn

Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Hàm lượng Phenol

Không lớn hơn 5,5 g/l (Phụ lục 15.28).

pH

6,5 đến 7,5 (Phụ lục 15.33).

Cách dùng, liều lượng

Tiêm trong da, liều 5 IU/0,1ml.

Đóng gói, bảo quản

Tùy theo nhà sản xuất, thường có ba dạng:

Một ống chứa 15 IU, tương đương 3 liều;

Một ống chứa 50 IU, tương đương 10 liều;

Một ống chứa 100 IU, tương đương 20 liều.

Tuberculin được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

(CÁC) VẮC XIN DÙNG CHO NGƯỜI***Vaccina ad usum humanum*****Giới thiệu**

Vắc xin dùng cho người là những chế phẩm chứa các kháng nguyên có khả năng tạo miễn dịch chủ động và đặc hiệu để phòng bệnh do vi sinh vật gây nên. Vắc xin được sản xuất từ vi khuẩn, *Rickettsia* hoặc virus. Vắc xin dùng cho người có thể là (1) vi sinh vật đã được bất hoạt nhưng vẫn giữ được tính sinh miễn dịch; hoặc (2) vi sinh vật sống không độc; hoặc (3) các thành phần kháng nguyên của vi sinh vật.

Sản xuất

Các phương pháp sản xuất từng loại vắc xin sẽ được mô tả ở phần tiếp theo dưới đây hoặc trong các chuyên luận riêng. Các phương pháp này cần bảo đảm cho vắc xin có đủ tính kháng nguyên cũng như tính vô hại và không bị tạp nhiễm.

Trong quá trình sản xuất có thể dùng thêm chất phụ thích hợp nhưng không được cho thêm penicilin ở bất kỳ giai đoạn nào của quá trình sản xuất.

Có thể tăng khả năng sinh miễn dịch của một số loại vắc xin bằng cách cho thêm chất phụ thích hợp ghi trong các chuyên luận riêng.

Có thể dùng chất bảo quản thích hợp theo quy định cho một số vắc xin bất hoạt.

Vắc xin thành phẩm được phân bổ vào các ống (hoặc lọ) và gắn kín để tránh nhiễm khuẩn. Một số vắc xin thành phẩm được sản xuất dưới dạng đông khô. Chỉ hoàn nguyên vắc xin đông khô ngay trước khi sử dụng.

Vắc xin vi khuẩn

Vắc xin vi khuẩn được sản xuất từ các chủng vi khuẩn thích hợp, nuôi cấy trên môi trường và điều kiện nuôi cấy thích hợp.

Vắc xin vi khuẩn bất hoạt có chứa vi khuẩn hoặc các thành phần kháng nguyên của vi khuẩn đã được bất hoạt nhưng vẫn giữ được khả năng sinh miễn dịch.

Vắc xin vi khuẩn sống được sản xuất từ chủng giảm độc nhưng vẫn có khả năng kích thích sinh miễn dịch đặc hiệu.

Nồng độ của vi khuẩn bất hoạt trong vắc xin được đo bằng đơn vị độ đục quốc tế hoặc đếm tế bào trực tiếp. Đối với vắc xin vi khuẩn sống, có thể xác định số lượng đơn vị sống.

Giải độc tố vi khuẩn

Các giải độc tố vi khuẩn được chế tạo từ độc tố đã giải độc nhưng vẫn giữ được tính sinh miễn dịch và không còn khả năng hồi độc.

Ở đáy lọ giải độc tố tinh chế, sau khi hấp phụ, có một lớp cặn màu trắng hoặc vàng nhạt; khi lắc, cặn này sẽ phân bố đều trong lọ vắc xin.

Vắc xin virus

Vắc xin virus là huyền dịch virus thu được sau khi cấy trên động vật, trứng có phôi, hoặc tế bào nuôi thích hợp. Những vắc xin này có thể ở dạng lỏng hoặc đông khô.

Vắc xin virus thường được sản xuất từ chủng virus đặc hiệu giảm độc lực. Vắc xin virus có thể có màu nếu chứa chỉ thị pH như đỏ phenol.

Vắc xin virus bất hoạt thường được xử lý bằng phương pháp hóa học hoặc lý học.

Vắc xin phối hợp

Các vắc xin phối hợp là hỗn hợp của 2 hoặc nhiều loại vắc xin khác nhau.

Hàm lượng hoá chất có trong vắc xin

Phenol

Đối với các vắc xin có chứa phenol, cần xác định hàm lượng theo Phụ lục 15.28. Nếu phenol đã được dùng trong quá trình sản xuất thì hàm lượng cuối cùng trong vắc xin thành phẩm không được quá 2,5 g/l, trừ trường hợp đặc biệt.

Formaldehyd

Đối với các vắc xin có chứa formaldehyd, cần xác định hàm lượng theo Phụ lục 15.25. Nếu formaldehyd đã được dùng trong quá trình sản xuất thì hàm lượng cuối cùng trong vắc xin thành phẩm không được quá 0,2 g/l formaldehyd tự do, trừ trường hợp đặc biệt.

Nhôm

Đối với các vắc xin có chứa thành phần nhôm (Al^{+++}), cần xác định hàm lượng theo Phụ lục 15.27. Nếu nhôm được dùng để hấp phụ vắc xin thì hàm lượng cuối cùng không được quá 1,25 mg nhôm (Al^{+3}) cho mỗi liều đơn tiêm cho người, trừ trường hợp đặc biệt.

Bảo quản

Vắc xin phải được bảo quản tránh ánh sáng. Trừ khi có quy định riêng trong từng chuyên luận, các vắc xin phải bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C và các vắc xin lỏng không được đông băng.

Hạn dùng

Hạn dùng được tính từ khi bắt đầu thử nghiệm công hiệu hoặc hiệu giá trong những điều kiện bảo quản quy định đối với từng loại vắc xin.

Hạn dùng của vắc xin được quy định trong từng chuyên luận riêng.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN BẠCH HẦU HẤP PHỤ

Vaccinum Diphtheriae adsorbatum

Định nghĩa

Vắc xin bạch hầu hấp phụ được điều chế từ độc tố bạch hầu đã xử lý bằng formaldehyd và nhiệt độ để mất tính độc mà vẫn còn tính sinh miễn dịch, chứa ít nhất 1500 Lf/ mg protein nitrogen và hấp phụ với một tá chất thích hợp như muối nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd trong dung dịch natri clorid 0,85 %. Có thể cho thêm chất bảo quản thích hợp.

Sản xuất

Chủng *Corynebacterium diphtheriae* dùng cho sản xuất phải tuân thủ quy định về hệ thống chủng được nuôi cấy trong môi trường lỏng thích hợp. Ở cuối giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những mẻ nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố (Lf/ ml) bằng phản ứng lên bông. Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc bằng formaldehyd và tinh chế theo phương pháp thích hợp. Kiểm tra giải độc tố tinh chế về độc tính đặc hiệu, tính hồi độc, độ sạch kháng nguyên trước khi dùng điều chế vắc xin thành phẩm.

Giải độc tố tinh chế bán thành phẩm

Chủng sản xuất phải có độc tính cao, biết rõ về nguồn gốc và lịch sử chủng. Môi trường nuôi cấy chứa độc tố bạch hầu cần được tách xác tế bào vi khuẩn càng sớm càng tốt. Xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông để giám sát tính ổn định trong sản xuất. Giải độc tố bạch hầu được tinh chế để loại bỏ các thành phần có thể gây các phản ứng phụ cho người. Độc tố sau khi tinh chế sẽ được bất hoạt bằng formaldehyd theo phương pháp thích hợp sao cho không ảnh hưởng đến khả năng sinh miễn dịch của giải độc tố và không bị hồi độc. Tuy nhiên, có thể lựa chọn quy trình tinh chế sau khi giải độc.

Chỉ có những giải độc tố tinh chế bán thành phẩm đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được sử dụng để pha vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô khuẩn

Tiến hành kiểm tra tính vô khuẩn của giải độc tố bạch hầu tinh chế bán thành phẩm với 10 ml mẫu cho mỗi môi trường kiểm tra (Phụ lục 15.7).

Tính độc đặc hiệu và tính hồi độc của giải độc tố bạch hầu

Kiểm tra tính độc đặc hiệu: Tiêm dưới da 1 ml giải độc tố tinh chế có chứa 500 Lf/ml/con cho 5 chuột lang khoẻ mạnh trọng lượng 250 g/con đến 350 g/con, chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích gì trước đó. Theo dõi và kiểm tra trọng lượng chuột trong 6 tuần. Những chuột chết sẽ phải mổ kiểm tra các dấu hiệu nhiễm độc tố bạch hầu (tuyến thượng thận sưng đỏ). Giải độc tố tinh chế đạt yêu cầu an toàn đặc hiệu khi không có chuột lang nào có dấu hiệu nhiễm độc tố bạch hầu trong 6 tuần theo dõi và có ít nhất 80 % chuột sống sót trong giai đoạn thử nghiệm.

Kiểm tra tính hồi độc của giải độc tố bạch hầu: Giải độc tố bạch hầu tinh chế phải được kiểm tra để đảm bảo không bị hồi độc. Sử dụng dung dịch đệm giống như dung dịch pha vắc xin bán thành phẩm cuối cùng nhưng không có chất hấp phụ để pha mẫu giải độc tố bạch hầu tinh chế bán thành phẩm thành huyền dịch chứa 35 Lf/ml. Chia thành 2 mẫu thử, trong đó một mẫu ủ ở $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ trong 6 tuần và mẫu kia ủ ở 37°C trong 6 tuần. Tiêm dưới da 5 ml/con, mỗi mẫu tiêm cho 5 chuột lang khoẻ mạnh trọng lượng 250 g/con đến 350 g/con, chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích gì trước đó. Thử nghiệm đạt yêu cầu khi cả 2 nhóm chuột đều khoẻ mạnh, không có chuột lang nào có dấu hiệu nhiễm độc tố bạch hầu trong 6 tuần theo dõi.

Độ tinh sạch của kháng nguyên bạch hầu

Giải độc tố bạch hầu tinh chế phải được kiểm tra độ tinh sạch của kháng nguyên bằng cách kiểm tra hàm lượng kháng nguyên bằng đơn vị Lf/mg nitrogen protein. Hàm lượng kháng nguyên được kiểm tra bằng cách so sánh với mẫu chuẩn đã được hiệu chuẩn bởi giải độc tố bạch hầu mẫu chuẩn quốc tế dành cho thử nghiệm lên bông hoặc mẫu chuẩn quốc gia tương đương.

Giải độc tố bạch hầu tinh chế đạt yêu cầu khi chứa không được ít hơn 1500 Lf/mg nitrogen protein.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được pha chế từ giải độc tố bạch hầu tinh chế, cho thêm nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd với hàm lượng thích hợp. Có thể cho thêm chất bảo quản. Chỉ những vắc xin bán thành phẩm cuối cùng đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được phép tiếp tục sản xuất thành vắc xin thành phẩm.

Chất bảo quản

Xác định hàm lượng chất bảo quản bằng phương pháp hóa học thích hợp. Hàm lượng chất bảo quản trong

vắc xin bán thành phẩm phải đạt ít nhất là 85 % và không được quá 115 % so với lượng dự kiến cho vào (Phụ lục 15.29).

Vô khuẩn

Tiến hành kiểm tra tính vô khuẩn của vắc xin bán thành phẩm cuối cùng với 10 ml mẫu cho mỗi môi trường kiểm tra (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm**Nhận dạng**

Thực hiện ít nhất trên một lọ vắc xin đã được dán nhãn.

Nhận dạng giải độc tố bạch hầu bằng thử nghiệm lên bông như mô tả trong Phụ lục 15.19.

Vô khuẩn

Vắc xin không nhiễm vi khuẩn và nấm (Phụ lục 15.7).

Công hiệu

Thực hiện theo Phụ lục 15.23.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Công hiệu của vắc xin bạch hầu dùng để tiêm trẻ em được coi là đạt yêu cầu khi không thấp hơn 30 IU đối với một liều đơn. Đối với các thử nghiệm sử dụng 3 độ pha loãng, giới hạn khoảng tin cậy 95 % của công hiệu phải nằm trong khoảng 50 % đến 200 % hoặc giới hạn dưới khoảng tin cậy 95 % của giá trị công hiệu phải lớn hơn 30 IU đối với một liều đơn cho người.

An toàn chung

Tiêm vắc xin bạch hầu với 1 liều tiêm cho người vào ổ bụng cho mỗi con trong số 5 chuột nhất trắng khoẻ mạnh, trọng lượng 17 g/con đến 22 g/con và chưa sử dụng với bất cứ mục đích gì trước đó; tiêm ít nhất 1 liều tiêm cho người nhưng không nhiều hơn 1 ml vào ổ bụng cho mỗi trong số 2 chuột lang khoẻ mạnh, trọng lượng 250 g/con đến 350 g/con và chưa sử dụng với bất cứ mục đích gì trước đó.

Vắc xin đạt tính an toàn chung, không có độc tính bất thường nếu toàn bộ chuột thử nghiệm đều khoẻ mạnh, lên cân và không có biểu hiện nhiễm độc trong 7 ngày theo dõi.

Chất bảo quản

Hàm lượng thimerosal không ít hơn 85 % hoặc không nhiều hơn 115 % so với lượng ghi trên nhãn (Phụ lục 15.29).

Nhôm

Không quá 1,25 mg nhôm trong một liều đơn vắc xin cho người (Phụ lục 15.27).

pH

6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Cảm quan

Mỗi loạt vắc xin thành phẩm sau khi sản xuất phải được kiểm tra bằng cảm quan để đảm bảo các lọ hay ống vắc xin trước khi xuất xưởng đều phải đạt yêu

cầu, không có dấu hiệu bất thường về cảm quan như: vật lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút chặt và đảm bảo tính nguyên vẹn. Trong quá trình kiểm tra, nếu ống hay lọ nào thấy không đạt yêu cầu cần được loại bỏ.

Bảo quản, hạn dùng

Khi bảo quản ở điều kiện quy định, vắc xin có thể giữ được công hiệu 3 năm kể từ ngày chuẩn độ công hiệu.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN BẠCH HẦU - UỐN VÁN - HO GÀ HẤP PHỤ (DTwP)

Vaccinum diphtheriae tetani et pertussis adsorbatum

Định nghĩa

Vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà là một hỗn hợp gồm các giải độc tố bạch hầu, uốn ván tinh chế hấp phụ và vắc xin ho gà toàn tế bào hấp phụ (DTwP).

Sản xuất giải độc tố bạch hầu

Vắc xin bạch hầu được sản xuất dựa vào hệ thống chủng gốc. Chủng *Corynebacterium diphtheriae* dùng cho sản xuất phải tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc và được nuôi cấy trên môi trường lỏng thích hợp. Cuối giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những loạt nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố bạch hầu (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông. Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc bằng formaldehyd và tinh chế theo phương pháp thích hợp.

Giải độc tố bạch hầu tinh chế được kiểm tra vô khuẩn, tính độc đặc hiệu, tính hồi độc, độ tinh sạch của kháng nguyên trước khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô khuẩn

Tiến hành thử nghiệm vô khuẩn trên môi trường canh thang Thioglycolat và Soybean Casein với mẫu giải độc tố bạch hầu tinh chế: 10 ml giải độc tố bạch hầu cho mỗi môi trường.

Cách tiến hành và tiêu chuẩn chấp thuận theo Phụ lục 15.7.

Kiểm tra tính độc đặc hiệu

Tiêm dưới da ít nhất 500 Lf của giải độc tố bạch hầu tinh chế chứa trong thể tích 1 ml vào mỗi trong số 5 chuột lang khỏe mạnh, trọng lượng 250 g/con đến 350 g/con chưa sử dụng vào bất cứ mục đích gì trước đó. Theo dõi chuột trong vòng 42 ngày sau tiêm, nếu thấy bất kỳ triệu chứng nào hay bị chết do độc tố bạch hầu thì lô giải độc tố bạch hầu tinh chế này không đạt về tính an toàn đặc hiệu. Nếu có hơn một chuột lang

thử nghiệm bị chết trong thời gian theo dõi vì bất kỳ nguyên nhân nào thì phải nhắc lại thử nghiệm. Nếu có hơn một chuột lang thử nghiệm bị chết trong lần thử nghiệm thứ hai thì lô giải độc tố bạch hầu tinh chế này cũng không đạt về tính an toàn đặc hiệu.

Kiểm tra tính hồi độc

Sử dụng dung dịch đậm giống như dùng để pha vắc xin thành phẩm nhưng không có chất hấp phụ để pha loãng giải độc tố bạch hầu tinh chế sao cho có chứa hàm lượng giải độc tố tương đương như trong vắc xin thành phẩm (35 Lf/ml); chia thành 2 phần tương đương nhau và ủ mỗi phần của dung dịch này ở nhiệt độ khác nhau (5 ± 3) °C và 37 °C trong 6 tuần. Mỗi trong 2 mẫu thử sau khi ủ được đưa ra kiểm tra tính hồi độc của độc tố bạch hầu bằng cách tiêm dưới da cho 5 chuột lang khỏe mạnh, trọng lượng 250 g/con đến 350 g/con.

Giải độc tố bạch hầu tinh chế đạt yêu cầu về thử nghiệm tính hồi độc khi các chuột thử nghiệm đều khỏe mạnh, lên cân và không có chuột nào có dấu hiệu về phản ứng do độc tố bạch hầu trong 6 tuần theo dõi.

Kiểm tra độ tinh sạch của kháng nguyên bạch hầu

Giải độc tố bạch hầu tinh chế phải đạt không ít hơn 1500 Lf/mg nitrogen protein.

Sản xuất giải độc tố uốn ván

Vắc xin uốn ván được sản xuất dựa vào hệ thống chủng gốc. Chủng *Clotridium tetani* dùng cho sản xuất phải tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc và được nuôi cấy trên môi trường thích hợp. Cuối giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những loạt nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố uốn ván (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông. Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc bằng formaldehyd và nhiệt độ; tinh chế theo phương pháp thích hợp.

Số lượng Lf trong vắc xin uốn ván bán thành phẩm tùy thuộc vào công thức gốc của từng nhà sản xuất nhưng không được quá 25 Lf trong một liều đơn cho người nếu sử dụng nhiều hơn một liều cho phác đồ tiêm miễn dịch cơ bản.

Giải độc tố uốn ván tinh chế được kiểm tra vô khuẩn, tính độc đặc hiệu, tính hồi độc, độ tinh sạch của kháng nguyên trước khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô khuẩn

Tiến hành thử nghiệm vô khuẩn trên môi trường canh thang Thioglycolat và Soybean Casein với mẫu giải độc tố uốn ván tinh chế: 10 ml giải độc tố uốn ván tinh chế cho mỗi môi trường.

Cách tiến hành và tiêu chuẩn chấp thuận theo Phụ lục 15.7.

Kiểm tra tính độc đặc hiệu

Tiêm dưới da ít nhất 500 Lf của giải độc tố uốn ván tinh chế chứa trong thể tích 1 ml vào mỗi chuột trong số 5 chuột lang khỏe mạnh, trọng lượng 250 g/con đến 350 g/con chưa sử dụng vào bất cứ mục đích gì trước đó. Theo dõi chuột trong vòng 21 ngày sau tiêm, nếu thấy bất kỳ triệu chứng nào hay bị chết do độc tố uốn ván thì lô giải độc tố uốn ván tinh chế này không đạt về tính an toàn đặc hiệu. Nếu có hơn một chuột lang thử nghiệm bị chết trong thời gian theo dõi vì bất kỳ nguyên nhân nào thì phải nhắc lại thử nghiệm. Nếu có hơn một chuột lang thử nghiệm bị chết trong lần thử nghiệm thứ hai thì lô giải độc tố uốn ván tinh chế này cũng không đạt về tính an toàn đặc hiệu.

Kiểm tra tính hồi độc

Sử dụng dung dịch đậm dùng để pha vắc xin thành phẩm nhưng không có chất hấp phụ để pha loãng giải độc tố uốn ván tinh chế sao cho có chứa hàm lượng giải độc tố tương đương như trong vắc xin thành phẩm (12,5 Lf/ml); chia thành 2 phần tương đương nhau và ủ mỗi phần của dung dịch này ở nhiệt độ khác nhau (5 ± 3) °C và 37 °C trong 6 tuần. Mỗi trong 2 mẫu thử sau khi ủ được đưa ra kiểm tra tính hồi độc của độc tố uốn ván bằng cách tiêm dưới da cho 5 chuột lang khỏe mạnh, trọng lượng 250 g/con đến 350 g/con.

Giải độc tố uốn ván tinh chế đạt yêu cầu về thử nghiệm tính hồi độc khi các chuột thử nghiệm đều khỏe mạnh, lên cân và không có chuột nào có dấu hiệu về phản ứng do độc tố uốn ván trong 3 tuần theo dõi.

Kiểm tra độ tinh sạch của kháng nguyên uốn ván

Giải độc tố uốn ván tinh chế phải đạt không ít hơn 1000 Lf/mg nitrogen protein.

Sản xuất nước cốt ho gà bất hoạt

Nước cốt ho gà được sản xuất dựa vào hệ thống chủng gốc. Chủng *Bordetella pertussis* dùng cho sản xuất vắc xin ho gà phải tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc và được nuôi cấy trên môi trường thích hợp. Việc lựa chọn chủng nuôi cấy, môi trường và phương pháp nuôi cấy thích hợp nhằm tạo ra vắc xin ho gà thành phẩm có được 3 ngưng kết nguyên 1; 2; 3. Từng chủng được nuôi cấy 24 giờ đến 72 giờ trong môi trường lỏng hoặc đặc. Không được dùng máu người hoặc các sản phẩm từ máu người trong bất kỳ môi trường nuôi cấy chủng ho gà nào để sản xuất vắc xin ho gà. Môi trường dùng trong giai đoạn nuôi cấy ho gà cuối cùng cũng không được phép có máu hoặc sản phẩm của máu.

Sau khi nuôi cấy, gặt và rửa sinh khối vi khuẩn ho gà để loại bỏ các chất còn tồn dư của môi trường nuôi cấy; pha thành hỗn dịch ho gà với nước muối sinh lý vô khuẩn thành hỗn dịch nước cốt ho gà cô đặc.

Kiểm tra tính thuần khiết của các mẻ gặt đơn

Lấy mẫu từ các mẻ gặt đơn để kiểm tra tính thuần khiết bằng phương pháp nhuộm soi kính hiển vi hoặc cấy vào môi trường nuôi cấy thích hợp. Các mẻ gặt đơn sẽ không được phép sử dụng vào việc pha chế bán thành phẩm khi phát hiện có nhiễm bất kỳ một loại gì khác vào sản phẩm.

Kiểm tra độ đục

Dùng bộ so độ đục chuẩn quốc tế hoặc đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 560 nm của hỗn dịch nước cốt ho gà cô đặc (không được muộn hơn hai tuần sau khi gặt và trước khi huyền dịch vi khuẩn được đưa vào bất kỳ quy trình pha chế nào tiếp theo) để xác định đậm độ của nước cốt ho gà cô đặc. Đậm độ nước cốt ho gà được sử dụng làm cơ sở để tính toán khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Thành phần ho gà trong vắc xin DTP hỗn hợp không vượt quá 20 đơn vị độ đục quốc tế (IOU) trong một liều đơn vắc xin cho người. Tỷ lệ thành phần các chủng *B. pertussis* không được thay đổi khi hỗn hợp vắc xin, phải đăng ký rõ trong hồ sơ và được sự chấp thuận của cơ quan kiểm định quốc gia.

Kiểm tra độ sống sót

Hỗn dịch vi khuẩn ho gà được giết chết và giải độc bằng phương pháp được sự chấp thuận của cơ quan kiểm định quốc gia. Các hóa chất được sử dụng để giết chết và giải độc vi khuẩn ho gà cũng phải được sự chấp thuận bởi cơ quan kiểm định quốc gia. Hỗn dịch vi khuẩn ho gà được giết chết bằng nhiệt độ trong khoảng thời gian thích hợp và được kiểm tra sự sống sót của các vi khuẩn này trên môi trường Border - Gengou. Sau khi bất hoạt, nước cốt ho gà được bảo quản ở nhiệt độ (5 ± 3) °C trong một khoảng thời gian cần thiết để giảm bớt tính độc.

Mỗi loạt nước cốt ho gà đơn sẽ không được dùng để pha chế vắc xin bán thành phẩm khi không đạt các tiêu chuẩn về vô khuẩn, khả năng bất hoạt hoàn toàn (kiểm tra độ sống sót), nhận dạng, khả năng phát triển, ngưng kết như chủng gốc *B. pertussis*.

Phương pháp sản xuất phải được thẩm định để chứng minh rằng sản phẩm khi kiểm định sẽ tuân thủ và đạt được các tiêu chuẩn như mô tả dưới đây.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm

Vắc xin bán thành phẩm được pha chế và hỗn hợp bởi một lượng thích hợp của giải độc tố bạch hầu và giải độc tố uốn ván đã được hấp phụ bởi nhôm phosphat hydrat hoặc nhôm hydroxyd và hỗn hợp thêm một lượng thích hợp của huyền dịch *B. pertussis* đã được bất hoạt; kết quả của sự hỗn hợp này khi tiêm vào cơ thể phải phù hợp về mặt sinh lý với máu. Hàm lượng *B. pertussis* của vắc xin bán thành phẩm phải không được vượt quá 20 IOU cho một liều đơn cho người. Nếu sử dụng 2 hoặc nhiều hơn số chủng *B. pertussis*

thì khi pha vắc xin bán thành phẩm phải tính toán sao cho tổng số đơn vị độ đục của các chủng ho gà đưa vào phải không thay đổi giữa các loạt vắc xin và không vượt quá 20 IOU cho một liều đơn cho người. Hàm lượng chất bảo quản trong vắc xin DTP hấp phụ phải không ảnh hưởng đến tính sinh miễn dịch của giải độc tố uốn ván, bạch hầu, vắc xin ho gà và không gây ra những phản ứng có hại cho người sử dụng. Chỉ vắc xin bán thành phẩm cuối cùng nào tuân thủ và đạt các yêu cầu dưới đây mới được sử dụng để sản xuất thành phẩm.

Chất bảo quản kháng khuẩn

Xác định hàm lượng chất bảo quản kháng khuẩn trong vắc xin bán thành phẩm cuối cùng bằng phương pháp thích hợp. Hàm lượng chất bảo quản không được ít hơn 85 % và không được nhiều hơn 115 % của lượng chất bảo quản tiêu chuẩn cho vào vắc xin (Phụ lục 15.29).

Vô khuẩn

Tiến hành thử nghiệm vô khuẩn trên môi trường canh thang Thioglycolat và Soybean casein. Dùng 10 ml vắc xin để kiểm tra trên mỗi môi trường (Phụ lục 15.7).

Công hiệu

Tiến hành các thử nghiệm kiểm tra công hiệu theo Phụ lục 15.22; Phụ lục 15.23 và Phụ lục 15.24.

Tính độc đặc hiệu

Tính độc đặc hiệu của vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà toàn tế bào được kiểm tra trên mẫu bán thành phẩm cuối cùng hay vắc xin thành phẩm khi cần thiết (Phụ lục 15.4).

Đối với thành phần bạch hầu và uốn ván

Chọn 5 chuột lang, có trọng lượng 250 g đến 350 g, tiêm dưới da một lượng vắc xin tương đương với ít nhất 5 liều đơn cho người. Theo dõi chuột hàng ngày. Vắc xin đạt yêu cầu nếu không có chuột lang nào có dấu hiệu liệt uốn ván hoặc triệu chứng nhiễm độc bạch hầu và ít nhất 80 % chuột sống trong thời gian 6 tuần. Nếu có chuột chết phải mổ để kiểm tra phủ tạng về dấu hiệu nhiễm độc bạch hầu (tuyến thượng thận đỏ).

Đối với thành phần ho gà

Dùng ít nhất 20 chuột nhắt trắng, trọng lượng 14 g đến 16 g, cùng giới (nếu có cả 2 giới cần phân chia đều trong các nhóm) cho mỗi mẫu vắc xin thử và nhóm chứng. Mỗi chuột được tiêm vào ổ bụng 0,5 ml dung dịch chứa tối thiểu nửa liều đơn vắc xin cho người. Nhóm chứng được tiêm 0,5 ml nước muối sinh lý (tốt nhất chứa cùng hàm lượng chất bảo quản như có trong dung dịch tiêm cho nhóm thí nghiệm). Tổng trọng lượng các nhóm chuột được xác định vào 72 giờ và 7 ngày sau tiêm. Vắc xin đạt yêu cầu nếu đạt cả 3 tiêu chuẩn sau:

Sau 72 giờ tổng trọng lượng chuột không ít hơn trước tiêm.

Sau 7 ngày trọng lượng trung bình mỗi chuột không ít hơn 60 % so với nhóm chứng.

Số chuột chết không quá 5 % tổng số chuột đã được tiêm.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng

Thành phần bạch hầu - uốn ván - ho gà toàn tế bào trong vắc xin DTwP hấp phụ được tách gel bằng cách cho thêm natri citrat ($C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$) với nồng độ 5 % ở 37 °C trong 48 giờ. Sau đó ly tâm 2000 vòng/phút trong 15 phút. Nước nổi được dùng để nhận dạng thành phần bạch hầu và uốn ván bằng phản ứng lên bông, cặn ly tâm dùng để nhận dạng thành phần ho gà có trong vắc xin bằng phản ứng ngưng kết trên phiến kính với các huyết thanh kháng ho gà đặc hiệu (Phụ lục 15.19).

Vô khuẩn

Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

An toàn chung

Thử nghiệm được tiến hành trên chuột nhắt trắng và chuột lang khoẻ mạnh. Tiêm vào ổ bụng cho 5 chuột nhắt trắng có trọng lượng 17 g/con đến 22 g/con, mỗi con một nửa liều tiêm cho người; tiêm vào ổ bụng 2 chuột lang có trọng lượng 250 g đến 350 g; mỗi con một liều tiêm cho người nhưng không quá 1 ml/con.

Vắc xin được coi là không có độc tính bất thường nếu tất cả các động vật thí nghiệm sống khoẻ mạnh và lên cân trong thời gian ít nhất 7 ngày thử nghiệm và không có dấu hiệu nhiễm độc.

Công hiệu

Tiến hành kiểm tra ở mẫu vắc xin DTP thành phẩm khi chưa kiểm tra công hiệu trên vắc xin bán thành phẩm hoặc khi có chỉ định cần thiết (Phụ lục 15.22; 15.23; 15.24).

Tính chất vật lý, hoá học

Cảm quan

Kiểm tra hình dạng bên ngoài của vắc xin bằng mắt thường: Huyền dịch vắc xin chia thành 2 lớp, phần dung dịch phía trên trong suốt không màu hoặc vàng nhạt; lớp lắng cặn dưới đáy lọ có màu trắng xám.

Nhanh chóng tạo huyền dịch đồng nhất sau khi lắc nhẹ, không lẫn chất lạ.

Tính chất vật lý

Thể tích vắc xin mỗi lọ: Thể tích ghi trên nhãn +10 %.

Tỷ lệ loại bỏ:

Đối với vắc xin đa liều: Không quá 3 %.

Đối với vắc xin liều đơn: Không quá 5 %.

Không bị đông băng (tiêu chuẩn này chỉ kiểm tra sau khi bảo quản hay vận chuyển theo dây chuyền lạnh, không phải tiêu chuẩn xuất xưởng của nhà sản xuất):

Lọ vắc xin mẫu thử phải có tốc độ lắng cặn chậm hơn nhiều so với lọ chứng dương và không có sự tạo hạt hay hình ảnh bông tuyết lơ lửng trong huyền dịch vắc xin hay kết thành cục sau khi lắc.

Chất bảo quản

Hàm lượng thimerosal cho phép là 0,005 % đến 0,02 % (Phụ lục 15.29).

Chất hấp phụ

Hàm lượng Al^{+++} trong vắc xin DTP hấp phụ không được quá 1,25 mg Al^{+++} /1 liều tiêm cho người (Phụ lục 15.27).

pH

6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Formaldehyd tồn dư

Không quá 0,02 % (Phụ lục 15.25).

Bảo quản và hạn dùng

Ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C vắc xin có thể giữ công hiệu 2,5 năm.

Nhà sản xuất phải đưa ra khuyến cáo về điều kiện bảo quản và vận chuyển vắc xin DTP hấp phụ để đảm bảo rằng vắc xin đạt công hiệu theo yêu cầu cho đến khi hết hạn sử dụng như đã đăng ký và ghi trên nhãn. Vắc xin DTP hấp phụ phải được bảo quản sao cho không bị đông băng.

Hạn dùng của vắc xin phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận và cố định, dựa vào các số liệu nghiên cứu tính ổn định của vắc xin và không được quá 2,5 năm tính từ cuối thử nghiệm kiểm tra công hiệu (tính từ ngày tiêm miễn dịch trên động vật thí nghiệm).

Nhãn

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN BẠCH HẦU, UỐN VÁN HẤP PHỤ DÙNG CHO NGƯỜI LỚN VÀ VỊ THÀNH VIÊN

Vaccinum diphtheriae et tetani ad usum adulti et adolescentis adsorbatum

Định nghĩa

Vắc xin bạch hầu, uốn ván hấp phụ là vắc xin phối hợp, được điều chế từ độc tố bạch hầu và độc tố uốn ván. Các độc tố này được sinh ra trong quá trình nuôi cấy *Corynebacterium diphtheriae* hoặc *Clostridium tetani*, sau đó xử lý bằng formaldehyd và nhiệt độ để làm mất tính độc, trở thành giải độc tố mà vẫn còn khả năng sinh miễn dịch. Các giải độc tố được hấp phụ với tá chất thích hợp như nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd.

Sản xuất

Giải độc tố bạch hầu tinh chế bán thành phẩm

Chủng dùng sản xuất ra độc tố bạch hầu cần phải tuân thủ quy định về hệ thống giống chủng. Chủng *Corynebacterium diphtheriae* có tính độc cao đã biết rõ nguồn gốc và lịch sử, được nuôi cấy trong môi trường lỏng phù hợp. Kết thúc giai đoạn nuôi cấy, từng mẻ nuôi cấy được kiểm tra độ sạch để loại bỏ những mẻ bị nhiễm tạp. Độc tố được chiết tách vô khuẩn để loại bỏ xác vi khuẩn. Thông qua việc xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) có thể giám sát được tính ổn định trong sản xuất.

Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại rồi giải độc và tinh chế. Quá trình tinh chế có thể thực hiện trước hoặc sau quá trình giải độc. Việc tinh chế độc tố nhằm loại bỏ các thành phần gây ra những phản ứng phụ ở người. Độc tố tinh chế được giải độc bằng formaldehyd theo phương pháp thích hợp (thông thường bằng nhiệt) nhằm tránh sự phá hủy khả năng sinh miễn dịch của giải độc tố và tránh hồi độc.

Chỉ những giải độc tố tinh chế bán thành phẩm đạt những tiêu chuẩn quy định mới được dùng để pha chế thành vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Kiểm tra vô khuẩn

Cần tiến hành thử nghiệm vô khuẩn với ít nhất một lượng mẫu thử 10 ml trên mỗi loại môi trường.

Kiểm tra an toàn đặc hiệu (xác định sự không có mặt của độc tố):

Tiêm dưới da 1 ml giải độc tố tinh chế chứa ít nhất 500 Lf (mỗi chuột) cho 5 chuột lang khỏe mạnh có trọng lượng 250 g/con đến 350 g/con, chưa dùng cho thử nghiệm nào trước đó. Theo dõi chuột trong 42 ngày, thử nghiệm đạt yêu cầu nếu như không có chuột nào chỉ ra dấu hiệu hoặc bị chết do nhiễm độc tố bạch hầu. Nếu nhiều hơn 1 con chuột lang chết không rõ nguyên nhân, thử nghiệm cần nhắc lại. Nếu trong lần thử thứ hai có nhiều hơn 1 chuột chết, giải độc tố đó không đạt yêu cầu về an toàn.

Kiểm tra tính hồi độc của độc tố bạch hầu

Pha loãng giải độc tố tinh chế trong dung dịch đệm để có hàm lượng tương đương với hàm lượng giải độc tố bạch hầu trong vắc xin thành phẩm. Chia mẫu thử thành 2 phần tương đương nhau rồi giữ ở 2 nhiệt độ (5 ± 3) °C và 37 °C trong 6 tuần.

Cả 2 mẫu thử được kiểm tra bằng cách tiêm dưới da 5 ml (mỗi chuột) cho 5 chuột lang có trọng lượng 250 g đến 350 g. Theo dõi chuột trong 6 tuần. Giải độc tố bạch hầu đạt yêu cầu, nếu kết quả kiểm tra của các mẫu thử không chỉ ra sự có mặt của độc tố bạch hầu.

Độ sạch kháng nguyên: Không ít hơn 1 500 Lf/mg nito protein

Giải độc tố uốn ván tinh chế bán thành phẩm

Chủng dùng sản xuất ra độc tố uốn ván cần phải tuân thủ quy định về hệ thống giống chủng. Chủng *Clos-*

tridium tetani có tính độc cao đã biết rõ về nguồn gốc và lịch sử, được nuôi cấy trong môi trường lỏng phù hợp. Kết thúc giai đoạn nuôi cấy, mỗi mẻ nuôi cấy được kiểm tra độ thuần khiết để loại bỏ những mẻ bị tạp nhiễm. Môi trường có độc tố được chiết tách vô khuẩn để loại bỏ xác vi khuẩn. Thông qua việc xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) có thể giám sát được tính ổn định trong sản xuất.

Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc và tinh chế. Quá trình tinh chế có thể thực hiện trước hoặc sau quá trình giải độc. Tinh chế độc tố nhằm loại bỏ các thành phần gây ra những phản ứng phụ ở người. Độc tố tinh chế được giải độc bằng formaldehyd theo phương pháp thích hợp, nhằm tránh sự phá hủy khả năng sinh miễn dịch của giải độc tố và tránh việc hồi phục độc lực, thông thường dùng phương pháp nhiệt. Chỉ những giải độc tố uốn ván tinh chế bán thành phẩm đạt những tiêu chuẩn quy định mới được dùng để pha chế thành vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Kiểm tra vô khuẩn

Cần tiến hành thử nghiệm vô khuẩn với ít nhất một lượng mẫu thử 10 ml trên mỗi loại môi trường (Phụ lục 15.7).

Kiểm tra an toàn đặc hiệu (xác định sự không có mặt của độc tố)

Tiêm dưới da giải độc tố tinh chế chứa ít nhất 500 Lf cho mỗi chuột trong 5 chuột lang khỏe mạnh có trọng lượng 250 g/con đến 350 g/con mà chưa dùng cho thử nghiệm nào trước đó. Theo dõi chuột trong 21 ngày, thử nghiệm đạt yêu cầu nếu như không có chuột nào chỉ ra dấu hiệu liệt hoặc bị chết bởi độc tố uốn ván. Nếu nhiều hơn 1 con chuột chết không rõ nguyên nhân, thử nghiệm cần nhắc lại. Nếu trong lần thử thứ 2 có nhiều hơn 1 chuột chết hoặc liệt, giải độc tố uốn ván đó không đạt yêu cầu về an toàn.

Kiểm tra tính hồi độc của độc tố uốn ván

Pha loãng giải độc tố uốn ván tinh chế trong dung dịch đệm để có hàm lượng tương đương với hàm lượng có trong vắc xin thành phẩm. Chia thể tích mẫu thành 2 phần tương đương nhau và giữ ở 2 nhiệt độ $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ và 37°C trong 6 tuần.

Cả 2 mẫu thử được kiểm tra bằng việc tiêm dưới da cho 5 chuột lang, mỗi con có trọng lượng 250 g đến 350 g, liều tiêm 5 ml/con. Theo dõi trong 21 ngày. Giải độc tố đạt yêu cầu nếu kết quả kiểm tra của các mẫu thử không chỉ ra sự có mặt của độc tố uốn ván.

Độ sạch kháng nguyên: Không ít hơn 1000 Lf/mg nitơ protein.

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được điều chế bằng cách cho giải độc tố tinh chế bạch hầu và giải độc tố tinh chế uốn ván hấp phụ với nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd. Cho thêm chất bảo quản, thông thường dùng thimerosal. Không sử dụng phenol là loại gây ảnh hưởng có hại cho hoạt tính kháng nguyên.

Chỉ những vắc xin bán thành phẩm cuối cùng đạt những tiêu chuẩn quy định mới được dùng để pha chế thành vắc xin thành phẩm.

Chất bảo quản

Xác định hàm lượng chất bảo quản bằng phương pháp hóa học thích hợp. Hàm lượng chất bảo quản không ít hơn 85 % và không nhiều hơn 115 % so với lượng ghi trên nhãn (Phụ lục 15.29).

Vô khuẩn

Cần tiến hành thử nghiệm vô khuẩn với lượng mẫu thử 10 ml trên mỗi loại môi trường (Phụ lục 15.7).

Công hiệu

Thử nghiệm công hiệu được thực hiện giai đoạn bán thành phẩm cuối cùng hoặc thành phẩm (Phụ lục 15.22 và Phụ lục 15.23).

An toàn đặc hiệu

Mỗi bán thành phẩm cuối cùng được kiểm tra an toàn đặc hiệu trong ít nhất 5 chuột lang chưa dùng thí nghiệm nào trước đó có trọng lượng 250 g/con đến 350 g/con bằng cách tiêm dưới da một lượng tương đương với ít nhất 5 liều đơn tiêm cho người. Theo dõi chuột trong vòng 42 ngày. Chuột chết được mổ và kiểm tra các phủ tạng. Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu không có chuột lang nào chỉ ra dấu hiệu của tính độc đặc hiệu của độc tố uốn ván (biểu hiện liệt hoặc dấu hiệu khác của độc tố uốn ván) và ít nhất có 80 % động vật sống sót trong thời gian theo dõi.

Vắc xin thành phẩm

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được đóng vô khuẩn vào các lọ nhỏ. Các lọ vắc xin phải được đóng kín để phòng ngừa nhiễm khuẩn.

Chỉ những loạt thành phẩm thỏa mãn các yêu cầu về các thử nghiệm như Tổ chức Y tế Thế giới và Tiêu chuẩn Việt Nam khuyến cáo mới được phép xuất xưởng để sử dụng.

Cảm quan

Mẫu kiểm định của mỗi loạt thành phẩm sẽ phải được kiểm tra bằng mắt thường. Nếu kết quả kiểm tra cho thấy có sự bất thường, không theo đúng yêu cầu cần phải hủy bỏ.

Nhận dạng

Nhận dạng giải độc tố bạch hầu và uốn ván bằng thử nghiệm lên bông hoặc khuếch tán miễn dịch.

Công hiệu

Thành phần bạch hầu: Phương pháp tiến hành như đã mô tả trong phụ lục xác định công hiệu vắc xin bạch hầu hấp phụ. Giới hạn 95 % độ tin cậy của công hiệu được đánh giá là không ít hơn 2 IU/liều đơn cho người (Phụ lục 15.23).

Thành phần uốn ván: Phương pháp tiến hành như đã mô tả trong phụ lục xác định công hiệu vắc xin uốn ván hấp phụ. Giới hạn 95 % độ tin cậy của công hiệu được đánh giá là không ít hơn 20 IU/liều đơn cho người (Phụ lục 15.22).

Vô khuẩn

Đạt yêu cầu về tính vô khuẩn, không nhiễm vi khuẩn và nấm (Phụ lục 15.7).

An toàn chung: Theo Phụ lục 15.11.

pH: 6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Thimerosal

Hàm lượng chất bảo quản thimerosal không ít hơn 85% và không nhiều hơn 115 % so với lượng ghi trên nhãn sinh phẩm (Phụ lục 15.29).

Nhôm:

Không quá 1,25 mg nhôm trong liều đơn vắc xin tiêm cho người (Phụ lục 15.27).

Hàm lượng muối natri clorid

Phụ lục 15.26.

Hàm lượng formaldehyd tồn dư

Phụ lục 15.25.

Bảo quản, hạn dùng

Hạn dùng của vắc xin phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận và cố định, dựa vào các số liệu nghiên cứu tính ổn định của vắc xin trên ít nhất 3 loạt liên tiếp (được sản xuất từ các bán thành phẩm riêng biệt).

Khi bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, vắc xin có hạn dùng là 3 năm kể từ ngày chuẩn độ công hiệu cuối cùng. Không được để vắc xin bị đông băng.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN BẠI LIỆT BẤT HOẠT (IPV)***Vaccinum Poliomyelitidis inactivatum*****Định nghĩa**

Vắc xin bại liệt bất hoạt là một hỗn dịch vô khuẩn của virus bại liệt týp 1, týp 2 và týp 3 phát triển trên nuôi cấy tế bào, được cô đặc, tinh khiết, bất hoạt và dùng để gây miễn dịch chủ động, đặc hiệu cho người, phòng bệnh bại liệt do virus Polio gây nên.

Sản xuất**Chủng sản xuất**

Sản xuất được dựa trên hệ thống chủng giống gốc (Master seed) của virus hoang dại hoặc virus giảm độc lực được cấy truyền không quá 2 lần bằng phương pháp đã được phê chuẩn của Viện Kiểm định quốc gia vắc xin và sinh phẩm y tế (NICVB). Chủng được bảo quản ở nhiệt độ dưới âm 60 °C.

Tế bào sản xuất

Tế bào sử dụng cho sản xuất có nguồn gốc từ tế bào thận khi tiên phát đạt các yêu cầu của Tổ chức Y tế Thế giới. Có thể sử dụng huyết thanh động vật trong nuôi cấy tế bào.

Khi dùng cho sản xuất

Phải đạt các tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế Thế giới và NICVB đưa ra.

Qui trình sản xuất và kiểm định sản xuất

Qui trình sản xuất vắc xin phải theo các quy trình của Tổ chức Y tế Thế giới. Chủng virus được nhân lên trên tế bào thận khi tiên phát hoặc tế bào Vero và sử dụng môi trường thích hợp cho virus phát triển. Sau khi gặt, hỗn dịch virus được đông tan 3 lần, ly tâm bỏ cặn, lọc vô trùng, sau đó đưa vào qui trình cô đặc và tinh khiết kháng nguyên; bước tiếp theo là qui trình bất hoạt virus bằng formaldehyd và trung hòa formaldehyd. Sau cùng, hỗn dịch virus được chế thành vắc xin bất hoạt, tam liên. Phải thực hiện kiểm định trong suốt quá trình sản xuất ở các công đoạn: Vật liệu nguồn (tế bào, môi trường nuôi cấy,...), mẻ gặt đơn, bán thành phẩm sau khi siêu ly tâm, trước khi bất hoạt, sau khi bất hoạt,... nhằm kiểm tra tác nhân ngoại lai, xác định hiệu giá vắc xin trước khi bất hoạt, xác định kháng nguyên D, xác định độ tinh khiết của virus, xác định độ sống tồn dư của virus sau khi bất hoạt.

Chế phẩm phải đạt những yêu cầu đã ghi trong chuyên luận vắc xin và chỉ được phép sử dụng sau khi đạt các yêu cầu sản xuất và kiểm định trong quá trình sản xuất, đồng thời đạt các tiêu chuẩn kiểm định ở phần kiểm định vắc xin thành phẩm.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Cảm quan: Vắc xin bại liệt bất hoạt là một dung dịch lỏng, trong.

Nhận dạng: Vắc xin bại liệt bất hoạt khi tiêm cho khi hoặc chuột lang phải tạo được kháng thể trung hòa.

Vô khuẩn: Vắc xin bại liệt bất hoạt phải vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

An toàn chung: Vắc xin bại liệt bất hoạt phải an toàn khi thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt. Chuột khỏe mạnh và tăng trọng bình thường sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Công hiệu

Xác định nồng độ kháng nguyên D của vắc xin bại liệt bất hoạt từ chủng hoang dại: 40 đơn vị kháng nguyên D đối với týp 1; 8 đơn vị kháng nguyên D đối với týp 2; 32 đơn vị kháng nguyên D đối với týp 3. Với vắc xin bại liệt bất hoạt từ chủng Sabin: 30 đơn vị kháng nguyên D đối với týp 1; 100 đơn vị kháng nguyên D đối với týp 2; 100 đơn vị kháng nguyên D đối với týp 3.

Protein toàn phần: 50 µg protein trên 1 liều sử dụng (Phụ lục 15.34).

Chất gây sốt: Vắc xin bại liệt bất hoạt phải an toàn về mặt chất gây sốt. Khi tiêm cho thỏ, tổng số nhiệt độ tăng của 3 thỏ không quá 1,3 °C (Phụ lục 15.12).

Formaldehyd tồn dư: Không quá 0,12 mg/ml (Phụ lục 15.25).

pH

6,8 - 7,5 (Phụ lục 15.33).

Bảo quản

Vắc xin bại liệt bất hoạt được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng và không được đông băng.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

Hạn dùng

Trong điều kiện bảo quản như trên, vắc xin bại liệt bất hoạt có hạn dùng là 12 tháng kể từ ngày kiểm tra công hiệu lần cuối cùng.

Liều tiêm, đường tiêm

Tiêm dưới da, sử dụng 0,5 ml/liều.

VẮC XIN BẠI LIỆT UỐNG

Vaccinum Poliomyelitidis perorale

Định nghĩa

Vắc xin bại liệt uống là vắc xin được sản xuất từ các chủng virus bại liệt sống giảm độc (Chủng Sabin) typ 1, typ 2 và typ 3 phát triển trên tế bào nuôi thích hợp và dùng để gây miễn dịch chủ động, đặc hiệu cho người, phòng bệnh bại liệt do virus Polio gây nên. Vắc xin có thể chứa 1, hoặc 2, hoặc 3 typ virus. Vắc xin bại liệt uống là một dịch lỏng trong, màu hồng.

Sản xuất

Chủng sản xuất

Sản xuất phải dựa trên hệ thống chủng giống. Chủng sản xuất không được cấy truyền quá 2 lần từ chủng nguyên thủy (Sabin original) nếu không có qui định khác và phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận. Chủng phải được bảo quản ở nhiệt độ dưới -60 °C.

Khí và tế bào sản xuất

Khí và tế bào dùng để sản xuất vắc xin phải đạt các yêu cầu quy định của Tổ chức Y tế Thế giới. Có thể sử dụng huyết thanh động vật trong môi trường nuôi cấy tế bào, nhưng trong môi trường để duy trì tế bào khi nhân virus không được có protein. Có thể có độ phenol và các kháng sinh phù hợp ở nồng độ cho phép trong môi trường nuôi cấy tế bào.

Quy trình sản xuất và kiểm định sản xuất

Quy trình sản xuất phải đạt tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế Thế giới. Phải thực hiện các thử nghiệm kiểm định trong quá trình sản xuất ở các công đoạn: Vật liệu nguồn (khí, tế bào, môi trường nuôi cấy...); mẻ gặt đơn, bán thành phẩm trước lọc, bán thành phẩm sau

lọc, vắc xin thành phẩm..., nhằm kiểm tra vi khuẩn; nấm; *Mycoplasma*; các virus ngoại lai và tính ổn định sinh học của virus bại liệt (thử nghiệm Rct/40; D-marker; thử nghiệm độc tính thần kinh trên khi...). Chế phẩm phải đạt những yêu cầu đã ghi trong chuyên luận vắc xin dùng cho người và chỉ được cho phép sử dụng sau khi đạt được các yêu cầu sản xuất và kiểm định trong quá trình sản xuất, đồng thời đạt các tiêu chuẩn kiểm định ở mục dưới đây.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Cảm quan

Mỗi loạt vắc xin thành phẩm sau khi sản xuất phải được kiểm tra bằng cảm quan để đảm bảo các lọ hay ống vắc xin trước khi xuất xưởng đều phải đạt yêu cầu, không có dấu hiệu bất thường về cảm quan như: Vật lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút chặt và đảm bảo tính nguyên vẹn. Trong quá trình kiểm tra, nếu ống hay lọ nào thấy không đạt yêu cầu cần được loại bỏ.

Nhận dạng

Khi được trung hòa với kháng huyết thanh bại liệt đặc hiệu, virus không có khả năng gây nhiễm tế bào cảm thụ.

Vô khuẩn

Đạt vô khuẩn. Không nhiễm vi khuẩn, nấm (Phụ lục 15.7).

Kiểm tra Mycoplasma

Không nhiễm *Mycoplasma* (Phụ lục 15.36).

Công hiệu

Chuẩn độ hiệu giá bằng cách gây nhiễm virus trên tế bào cảm thụ.

Tiêu chuẩn đánh giá: Hiệu giá của vắc xin trong một liều uống (0,1 ml) phải đạt không ít hơn:

$10^{6,00}$ CCID₅₀ đối với typ 1.

$10^{5,00}$ CCID₅₀ đối với typ 2.

$10^{5,50}$ CCID₅₀ đối với typ 3.

Phương pháp tiến hành theo Phụ lục 15.21.

Tính bền vững nhiệt

Hiệu giá của vắc xin để ở 37 °C sau 48 giờ chỉ được phép giảm trong vòng 0,5 log₁₀ của hiệu giá của vắc xin để ở nhiệt độ bảo quản.

Tính chất vật lý, hóa học

Phải đạt tiêu chuẩn quy định của Tổ chức Y tế Thế giới.

Bảo quản

Vắc xin bại liệt uống phải được bảo quản ở nhiệt độ -20 °C. Sau khi tan băng 1 lần, có thể bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C và dùng trong vòng 6 tháng. Tránh ánh sáng và tránh bị đông tan nhiều lần.

Tính ổn định và hạn dùng

Nghiên cứu tính ổn định của vắc xin phải được tiến hành trên ít nhất là 3 loạt liên tiếp khi được bảo quản

theo thời gian ở điều kiện như ghi trên nhãn sản phẩm. Hạn dùng không được quá 2 năm khi bảo quản liên tục ở -20 °C và không quá 1 năm khi bảo quản ở 0 °C.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN BCG

Vaccinum BCG cryodessicatum

Định nghĩa

Vắc xin BCG đông khô là chế phẩm vi khuẩn "Calmette" và "Guerin" sống dùng để tiêm trong da phòng bệnh lao. Vắc xin được sản xuất ở dạng đông khô và hoàn nguyên ngay trước khi dùng với dung dịch hồi chỉnh thích hợp.

Sản xuất

Vắc xin BCG được sản xuất từ hệ thống chủng giống. Chủng được lựa chọn và bảo quản ổn định. Phương pháp sản xuất phải cho sản lượng vắc xin BCG ổn định và có khả năng gây miễn cảm đối với tuberculin cho người và bảo vệ được động vật thí nghiệm chống lại bệnh lao. Chủng sản xuất phải an toàn đối với người và động vật thí nghiệm. Vắc xin BCG được sản xuất tại Việt Nam từ chủng BCG 1173P2 - Pasteur Paris.

Chủng được nuôi trong môi trường Sauton - khoai tây, sau đó cấy chuyển sang môi trường Sauton lỏng. Sau khi gặt, vi khuẩn BCG được chế thành hỗn dịch vắc xin thuần nhất và đông khô.

Vắc xin được điều chế từ canh thang phải được tách biệt khỏi chủng gốc ban đầu bằng những lần cấy chuyển và không được cấy chuyển quá 8 lần.

Chủng sản xuất

Chủng gốc phải được thiết lập và duy trì để đảm bảo tính ổn định, có khả năng gây miễn cảm đối với tuberculin cho người và chuột lang, không gây bệnh cho người và động vật thí nghiệm.

Vắc xin BCG phải được bảo quản tránh ánh sáng mặt trời: Toàn bộ quy trình sản xuất phải được thiết kế sao cho từ nuôi cấy sản xuất vắc xin đến kiểm định, bảo quản đều không tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời, tia cực tím.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vô khuẩn

Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Phát hiện *Mycobacteria* gây bệnh

Chỉ được dùng những mẫu vắc xin BCG bán thành phẩm cuối cùng cho thử nghiệm này khi bảo quản ở 4 °C không quá 72 giờ sau khi gặt.

Thử nghiệm này thường được tiến hành trên mẫu bán thành phẩm và mẫu vắc xin BCG thành phẩm nếu cần thiết (Phụ lục 15.9).

Đậm độ vi khuẩn BCG

Có thể đo trực tiếp đậm độ vi khuẩn BCG trong huyền dịch vắc xin BCG bán thành phẩm cuối cùng bằng cách cân trọng lượng khô hoặc gián tiếp bằng cách đo mật độ quang của huyền dịch vi khuẩn đã được hiệu chuẩn tương ứng với trọng lượng khô.

Độ sống: Phụ lục 15.1.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Hình dạng bên ngoài và tốc độ tạo huyền dịch: Bột trắng, khô, bong, không teo; nhanh chóng tạo thành huyền dịch đồng nhất sau không quá 1 phút hoàn nguyên với nước muối sinh lý.

Mật độ quang

Không quá 0,5. Đo bằng quang phổ kế ở bước sóng 490 nm, lọc màu xanh lá cây (Phụ lục 4.1).

Độ phân tán

Phụ lục 15.3.

Độ chân không

Phụ lục 15.2.

Độ ẩm tồn dư

Không quá 3 % (Phụ lục 15.35).

Vô khuẩn

Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Nhận dạng

Nhận dạng BCG qua kính hiển vi để khẳng định tính kháng acid của vi khuẩn và quan sát hình thái khuẩn lạc trên môi trường đặc.

An toàn chung

Thử nghiệm an toàn chung cho vắc xin BCG chỉ tiến hành trên chuột nhắt trắng: 5 chuột nhắt trắng trọng lượng 17 g/con đến 22 g/con. Tiêm dưới da 1 mg vắc xin BCG/1 ml/chuột. Theo dõi và cân trọng lượng từng chuột trong 7 ngày. Nếu trong thời gian 7 ngày theo dõi có bất kỳ chuột nào bị giảm cân hoặc chết phải nhắc lại thí nghiệm lần 2 với số lượng chuột và mẫu gấp đôi.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Sau 7 ngày theo dõi, cả 5 chuột phải đều khỏe mạnh, lên cân, không có biểu hiện bệnh lý.

An toàn đặc hiệu (Phát hiện *Mycobacteria* gây bệnh)

Thử nghiệm này thường được tiến hành trên mẫu bán thành phẩm và mẫu vắc xin BCG thành phẩm nếu cần thiết (Phụ lục 15.9).

Kiểm tra phản ứng da

Tiêm trong da cho ít nhất 4 chuột lang cùng giới (nếu là chuột cái thì không có thai), có phản ứng âm tính với tuberculin, trọng lượng 250 g/con đến 400 g/con. Tiêm cho mỗi chuột 0,1 ml vắc xin của từng đậm độ pha loãng 1/1; 1/10; 1/100 (của vắc xin thử và vắc xin mẫu chuẩn). Theo dõi thương tổn tại chỗ tiêm hàng tuần, trong 4 tuần. Sau 4 tuần, kiểm tra phản ứng tuberculin

bằng cách tiêm trong da 5 TU/0,1 ml/chuột. Đọc kết quả phản ứng sau 24 giờ.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Phản ứng da đối với vắc xin thử và vắc xin mẫu chuẩn phải không có sự khác biệt đáng kể.

Kiểm tra độ sống

Xác định độ sống trong vắc xin đã hoàn nguyên bằng cách đếm số lượng khuẩn lạc trên môi trường Lowenstein-Jensen. Số lượng đơn vị sống (đvs) phải nằm trong khoảng 1.10^6 đến 6.10^6 đvs/mg BCG (Phụ lục 15.1).

Tính ổn định nhiệt

Số đơn vị sống của vắc xin BCG sau khi ủ ở 37 °C trong 28 ngày phải đạt ít nhất là 20 % so với ủ ở 4 °C trong 28 ngày (Phụ lục 15.1).

Bảo quản, hạn dùng

Vắc xin BCG đông khô phải bảo quản trong điều kiện nhiệt độ 2 °C đến 8 °C và tránh ánh sáng mặt trời, hạn dùng ít nhất 24 tháng. Sau khi hoàn nguyên vắc xin phải được bảo quản tránh ánh sáng mặt trời ở điều kiện nhiệt độ 2 °C đến 8 °C và chỉ được sử dụng trong khoảng thời gian tối đa là 4 giờ.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN ĐẠI TẾ BÀO DỪNG CHO NGƯỜI

Vaccinum Rabiei ex cellulis ad usum humanum

Định nghĩa

Vắc xin đại tế bào dùng cho người là một chế phẩm đông khô, được sản xuất từ chủng virus đại cố định phù hợp, phát triển trên nuôi cấy tế bào và được bất hoạt bằng phương pháp đã được thẩm định. Vắc xin được hồi chính ngay trước khi sử dụng như quy định ghi trên nhãn lọ để tạo ra một dung dịch trong suốt, có thể có màu sắc tùy theo chỉ thị pH có mặt trong vắc xin.

Vắc xin đại tế bào phải tuân thủ các yêu cầu chung của một vắc xin dùng cho người.

Sản xuất

Sản xuất vắc xin đại tế bào dựa trên hệ thống chủng virus giống và hệ thống ngân hàng tế bào được sử dụng để virus đại nhân lên. Quy trình sản xuất phải có được hiệu suất vắc xin ổn định, đạt các yêu cầu về tính sinh miễn dịch, tính an toàn và ổn định.

Hệ thống tế bào cho virus nhân lên

Virus đại có thể nhân lên trên tế bào lưỡng bội người, tế bào phôi gà, tế bào Vero hoặc tế bào trứng chuột đất vàng Trung Quốc (CHO - Chinese Hamster Ovary).

Chủng virus giống gốc

Chủng virus đại được sử dụng để sản xuất phải có hồ sơ chi tiết, trong đó ghi rõ nguồn gốc chủng và các đời cấy chuyển.

Chủng virus sản xuất được cấy chuyển không quá 5 lần từ chủng giống gốc và chỉ các loạt chủng virus sản xuất đạt các yêu cầu sau đây mới tiếp tục được sử dụng để sản xuất vắc xin.

Nhận dạng

Mỗi loạt chủng virus sản xuất phải được xác định là virus đại bằng kháng thể đặc hiệu với virus đại.

Hiệu giá virus

Nồng độ của mỗi loạt chủng virus sản xuất được xác định bằng phương pháp tiêm truyền trên não chuột hoặc bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang trên nuôi cấy tế bào để đảm bảo tính ổn định của quy trình sản xuất.

Vô trùng

Loạt chủng virus sản xuất phải đạt được yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Nuôi cấy virus và thu hoạch

Toàn bộ quy trình lưu giữ ngân hàng tế bào và cấy chuyển tế bào đều phải được thực hiện trong điều kiện vô khuẩn, không có mặt của các tế bào khác loại. Huyết thanh động vật (không được dùng huyết thanh người) được phép sử dụng trong môi trường nuôi cấy, nhưng trong môi trường cuối cùng để duy trì tế bào phát triển giúp virus nhân lên không được chứa huyết thanh động vật, môi trường này có thể chứa albumin huyết thanh người. Huyết thanh và trypsin dùng để tách tế bào và dùng trong môi trường nuôi cấy không được có mặt các tác nhân gây nhiễm ngoại lai. Môi trường nuôi cấy tế bào phải có chỉ thị pH như đỏ phenol và kháng sinh được phép sử dụng với nồng độ thấp nhất vẫn có được hiệu quả. Khoảng 10 % số lượng tế bào nuôi cấy dùng cho sản xuất được để lại không gây nhiễm, đây là các tế bào chứng. Hỗn dịch virus được thu hoạch một hoặc nhiều lần trong quá trình nuôi cấy. Nhiều lần thu hoạch từ cùng một loạt nuôi cấy sản xuất có thể trộn lại với nhau và được xem như một mẻ gặt đơn.

Một mẻ gặt đơn phải đạt các yêu cầu sau đây, mới được sử dụng để tiến hành bước bất hoạt virus.

Nhận dạng

Mẻ gặt đơn có chứa virus phải được xác định là virus đại bằng kháng thể đặc hiệu.

Hiệu giá virus

Hiệu giá virus được xác định bằng nhiều phương pháp: Tiêm truyền trên não chuột nhắt trắng, kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang trên nuôi cấy tế bào hoặc bằng kỹ thuật ELISA. Hiệu giá được sử dụng như một chỉ số theo dõi tính ổn định của quy trình sản xuất.

Tế bào chứng

Tế bào chứng của mỗi loạt nuôi cấy tế bào sản xuất phải đạt yêu cầu về thử nghiệm nhận dạng và không có mặt các tác nhân ngoại lai.

Tinh chế và bất hoạt

Mê gặt virus có thể được cô đặc và tinh chế bằng các phương pháp phù hợp; mỗi mê gặt virus được bất hoạt bằng phương pháp đã được thẩm định tại một giai đoạn ấn định của quy trình sản xuất. Phương pháp bất hoạt phải đảm bảo virus đại bị bất hoạt hoàn toàn mà không làm mất đi hoạt tính sinh miễn dịch của nó. Nếu sử dụng beta-propiolacton để bất hoạt, nồng độ không được vượt quá 1:3500.

Một hỗn dịch virus sau bất hoạt phải đạt được yêu cầu sau đây mới được sử dụng để sản xuất vắc xin bán thành phẩm:

An toàn đặc hiệu

Xác định sự có mặt của các virus đại còn khả năng gây nhiễm trong các mẫu sau khi bất hoạt bằng thử nghiệm an toàn đặc hiệu trên chuột nhắt trắng. Chuột phải khoẻ mạnh và tăng trọng bình thường sau thời gian theo dõi 14 ngày.

Phương pháp xác định an toàn đặc hiệu

Động vật thí nghiệm: Sử dụng ít nhất 10 chuột nhắt trắng 4 tuần tuổi có trọng lượng 11 g đến 13 g. Lựa chọn những chuột khoẻ mạnh, không có biểu hiện bệnh lý và tăng trọng bình thường trong thời gian cách ly ít nhất là 5 ngày trước khi tiến hành thử nghiệm.

Cách tiến hành: Mẫu thử nghiệm không pha loãng được tiêm vào não với liều 0,03 ml cho mỗi chuột.

Theo dõi và đọc kết quả: Toàn bộ chuột thử nghiệm phải được theo dõi và cân trọng lượng hàng ngày trước và sau khi tiêm. Thời gian theo dõi sau tiêm là 14 ngày. Trong suốt thời gian theo dõi, chuột phải khoẻ mạnh, tăng trọng và không được có các triệu chứng bất thường.

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được sản xuất từ một hay nhiều hỗn dịch virus đại bất hoạt. Chất ổn định được phép sử dụng có thể được thêm vào để duy trì hoạt tính của sản phẩm trong và sau khi đông khô. Một loạt vắc xin bán thành phẩm cuối cùng phải đạt được các yêu cầu sau đây, mới được sử dụng để sản xuất vắc xin thành phẩm:

Hàm lượng glycoprotein

Hàm lượng glycoprotein được xác định bằng phương pháp hóa miễn dịch phù hợp như thử nghiệm khuếch tán miễn dịch đơn, thử nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn men (ELISA) hoặc thử nghiệm gắn kháng thể. Hàm lượng glycoprotein nằm trong giới hạn cho phép tùy thuộc vào từng nhà sản xuất.

Vô khuẩn

Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Vắc xin thành phẩm

Vắc xin thành phẩm được đóng vào các lọ vô trùng và được đông khô để duy trì tính ổn định của vắc xin. Lọ vắc xin được đóng chặt để tránh nhiễm khuẩn và hơi ẩm.

Một loạt vắc xin thành phẩm phải đạt được các yêu cầu dưới đây, mới được xuất xưởng:

Nhận dạng

Trong vắc xin phải chứa kháng nguyên của virus đại và được xác định bằng phương pháp hóa miễn dịch phù hợp với kháng thể đặc hiệu, tốt nhất là kháng thể đơn dòng.

An toàn đặc hiệu

Xác định sự có mặt của các virus đại còn khả năng gây nhiễm trong các mẫu sau khi bất hoạt bằng thử nghiệm an toàn đặc hiệu trên chuột nhắt trắng. Trong trường hợp thử nghiệm an toàn đặc hiệu trên chuột đã được thực hiện với hỗn dịch virus bất hoạt đạt yêu cầu thì có thể không cần tiến hành lại thử nghiệm này đối với vắc xin thành phẩm.

Vô khuẩn

Vắc xin đại phải đạt được yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Chất gây sốt

Vắc xin phải đạt yêu cầu về chất gây sốt. Thử nghiệm được thực hiện bằng cách tiêm cho mỗi thỏ 1 liều đơn vắc xin dùng cho người, và được pha loãng 10 lần về thể tích (Phụ lục 15.12).

Độ ẩm tồn dư

Phụ lục 15.35.

Công hiệu

Phải kiểm tra công hiệu đối với tất cả các lô vắc xin thành phẩm.

Thực hiện theo phương pháp N.I.H. (Phụ lục 15.31).

Thử nghiệm có giá trị khi:

ED₅₀ của vắc xin mẫu chuẩn quốc gia và vắc xin mẫu thử đều nằm trong khoảng giữa liều tiêm lớn nhất và nhỏ nhất.

Phân tích thống kê cho thấy đạt yêu cầu về tuyến tính và song song.

Giới hạn độ tin cậy của công hiệu tương quan nằm trong khoảng 25 % đến 400 %.

Tiêu chuẩn: LD₅₀ của chủng thử thách (CVS - Challenge virus strain) phải nằm trong khoảng 10 - 100 LD₅₀/0,03 ml.

Công hiệu của vắc xin phải không nhỏ hơn 2,5 IU/liều tiêm cho người.

Sản xuất chủng virus thử thách (CVS)**Sản xuất chủng**

Tiêm chủng CVS vào não chuột nhắt trắng, trọng lượng 11 g đến 13 g, khi chuột có biểu hiện của nhiễm virus dại, nhưng trước khi chúng bị chết, tiến hành giết chuột và gặt não. Não chuột được nghiền nát và pha trong dung dịch phù hợp để có nồng độ cuối là 20 %. Chia hỗn dịch này thành các phần nhỏ trong các lọ, đậy kín và bảo quản ở nhiệt độ dưới âm 60 °C.

Chuẩn độ chủng

Làm tan băng 1 lọ chủng thử thách, pha loãng chủng ở các độ pha phù hợp. Mỗi độ pha của chủng CVS được tiêm vào não cho 10 chuột với liều 0,03 ml/1 chuột. Theo dõi chuột trong vòng 14 ngày sau tiêm. Tính LD₅₀ của chủng CVS theo công thức Reed - Muench dựa vào số chuột liệt hoặc chết, chỉ những chuột liệt hoặc chết sau ngày thứ 5 mới được tính.

Hạn dùng: 18 tháng.

Đóng gói, bảo quản

Đóng gói: Bao gồm 1 lọ vắc xin đông khô và 1 lọ nước hồi chính.

Vắc xin đại tế bào được đóng dạng đông khô trong lọ thủy tinh trung tính, nước hồi chính là dung dịch natri clorid 0,4 %.

Bảo quản: Vắc xin đại phải được bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

Chỉ định, liều dùng

Dùng bơm tiêm hút toàn bộ nước hồi chính cho vào lọ vắc xin đông khô, lắc thật kỹ cho đến khi tan hoàn toàn. Vắc xin phải được tiêm ngay sau khi đã hồi chính, bơm kim tiêm phải được hủy bỏ ngay sau khi tiêm vắc xin.

Tiêm bắp vùng cơ delta, đối với trẻ em nên tiêm bắp đùi tốt hơn. Không tiêm vào những vùng có nhiều tổ chức lỏng lẻo dưới da.

Lịch tiêm vắc xin đại phụ thuộc vào từng đối tượng khác nhau. Có 3 nhóm đối tượng chính:

Tiêm dự phòng các đối tượng có nguy cơ cao (tiếp xúc với virus dại)

Tiêm 3 mũi cơ bản vào các ngày: 0, 7, 28.

Mũi tăng cường: sau 1 năm.

Cứ sau 5 năm, nhắc lại 1 lần.

Lịch tiêm vào ngày 28 có thể thay thế bằng lịch tiêm vào ngày 21.

Tiêm điều trị các đối tượng nghi ngờ hoặc chắc chắn bị nhiễm virus dại (chó cắn)

Nếu đối tượng bị cắn chưa có miễn dịch với virus dại

Liều tiêm 0,5 ml, giống nhau giữa người lớn và trẻ em.

Tiêm 5 mũi: lịch tiêm vào các ngày 0, 3, 7, 14, 28.

Trong trường hợp có nhiều vết cắn hoặc cào xước, nhiều nước bọt... thì phải tiêm thêm globulin miễn dịch đại ngay vào ngày 0 với liều lượng:

Globulin miễn dịch đại người: 20 IU/ 1 kg cân nặng.

Globulin miễn dịch đại ngựa: 40 IU/ 1kg cân nặng.

Vắc xin nên tiêm vào các vị trí đối diện với vị trí tiêm globulin miễn dịch.

Trong các trường hợp nặng, ví dụ do vết cắn rộng hoặc vết cắn gần thần kinh trung ương, thì tùy từng trường hợp cụ thể có thể tiêm liền 2 mũi vắc xin trong cùng một ngày 0.

Nếu đối tượng bị cắn đã có miễn dịch với virus dại

Trường hợp đã tiêm vắc xin trong vòng 5 năm: tiêm tiếp 2 mũi vắc xin vào các ngày 0, 3.

Trường hợp đã tiêm vắc xin trên 5 năm hoặc tiêm nhưng không đầy đủ liệu trình: Nên áp dụng liệu trình tiêm giống như các đối tượng chưa có miễn dịch với virus dại.

VẮC XIN SỞI***Vaccinum morbillorum vivum*****Định nghĩa**

Vắc xin sởi là một chế phẩm virus sởi sống giảm độc lực, đông khô, được phát triển trên nuôi cấy tế bào thích hợp. Chế phẩm thỏa mãn tất cả các yêu cầu dưới đây.

Sản xuất

Chủng sản xuất: Sản xuất được dựa trên hệ thống chủng giống gốc (Master seed) virus giảm độc lực được phê chuẩn bởi Viện Kiểm định quốc gia, chủng được bảo quản ở nhiệt độ dưới âm 60 °C.

Tế bào sản xuất: Sử dụng ngân hàng tế bào sản xuất hoặc từ tế bào phôi gà có nguồn gốc từ trứng gà không có tác nhân gây bệnh (SPF) và được Viện Kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Quy trình sản xuất và kiểm định sản xuất: Chủng virus sởi được phát triển trên tế bào phôi gà hoặc tế bào từ ngân hàng tế bào sử dụng môi trường 199. Hỗn dịch virus được gặt, hỗn hợp, bổ sung chất bảo quản, lọc, pha loãng và đông khô theo qui trình đã được phê chuẩn. Trong quá trình sản xuất, tất cả các khâu đều được kiểm tra từ nguyên liệu nguồn (trứng gà, môi trường sử dụng cho sản xuất, huyết thanh bê, trypsin tách tế bào...); tế bào sử dụng cho sản xuất, mẻ gặt đơn, loạt vắc xin hỗn hợp, vắc xin bán thành phẩm cuối cùng... để kiểm tra tác nhân ngoại lai, kiểm tra hiệu giá virus, kiểm tra tính vô khuẩn, kiểm tra tính an toàn đặc hiệu,...

Hình dạng bên ngoài

Bao gồm 2 lọ: 01 lọ vắc xin sỏi đông khô và 01 lọ nước để pha thuốc tiêm.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng: Sử dụng phương pháp trung hòa vi lượng trên nuôi cấy tế bào Vero đã được Viện Kiểm định Quốc gia phê chuẩn.

Vắc xin sỏi đông khô được hồi chính và pha loãng bậc 10 từ 10^{-1} đến 10^{-3} và được trung hòa với kháng huyết thanh đặc hiệu của virus sỏi ở $37^{\circ}\text{C}/30$ min hoặc 4°C qua đêm. Hỗn dịch virus sỏi và kháng huyết thanh sau trung hòa được gây nhiễm trên tế bào Vero một lớp. Thử nghiệm luôn có đối chứng âm và đối chứng dương đi kèm, đọc kết quả sau 2 tuần.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Vắc xin đạt yêu cầu của thử nghiệm này khi tế bào Vero không bị hủy hoại tại mẫu vắc xin như mẫu đối chứng âm.

Vô khuẩn

Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Mycoplasma

Vắc xin sỏi phải không có *Mycoplasma* (Phụ lục 15.36).

Công hiệu và tính ổn định nhiệt

Chuẩn độ hiệu giá và thử nghiệm tính ổn định nhiệt bằng phương pháp vi lượng trên nuôi cấy tế bào Vero.

Chuẩn độ hiệu giá: Vắc xin sỏi được hồi chính và pha loãng bậc 10 từ nồng độ 10^{-1} đến 10^{-5} bằng môi trường DMEM 2 % huyết thanh bê. Sau đó cho vào mỗi giếng 0,1 ml hỗn dịch virus đã được pha loãng, 10 giếng/1 nồng độ. Cho 0,1 ml hỗn dịch thể bào Vero (150 000 tế bào/ml) vào mỗi giếng, ủ ở 36°C trong 9 ngày. Kết quả được tính theo công thức Karber.

Thử nghiệm đạt khi có hiệu giá 1000 CCID₅₀/0,5 ml.

Xác định tính ổn định nhiệt: Vắc xin sỏi được bảo quản ở nhiệt độ 37°C trong 1 tuần, hiệu giá vắc xin không được giảm quá 1 log.

An toàn chung: Vắc xin sỏi phải an toàn khi thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt. Chuột phải khỏe mạnh và tăng trọng bình thường sau 7 ngày theo dõi. Phụ lục 15.11.

Độ ẩm tồn dư

Độ ẩm tồn dư của vắc xin không được quá 3 % (Phụ lục 15.35).

Albumin tồn dư: Dưới 50 ng/ml.

Bảo quản

Vắc xin sỏi được bảo quản ở nhiệt độ 2°C đến 8°C , tránh ánh sáng.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

Hạn dùng

Trong điều kiện bảo quản như trên vắc xin sỏi có hạn dùng là 24 tháng kể từ ngày kiểm tra công hiệu lần cuối cùng.

Liều tiêm, đường tiêm

Tiêm dưới da, liều tiêm 0,5 ml/liều.

VẮC XIN TẢ UỐNG BẤT HOẠT***Vaccinum Cholerae per orale*****Định nghĩa**

Vắc xin tả uống bất hoạt là một chế phẩm sinh học được điều chế từ vi khuẩn tả toàn tế bào đã bất hoạt bằng formaldehyd hoặc nhiệt độ.

Mỗi liều 1,5 ml vắc xin tả uống gồm:

25 tỉ vi khuẩn *V. cholerae* týp sinh học cổ điển, týp huyết thanh Inaba (chủng 569B)

25 tỉ vi khuẩn *V. cholerae* týp sinh học cổ điển, týp huyết thanh Ogawa (chủng Cairo 50)

50 tỉ vi khuẩn *V. cholerae* týp sinh học El Tor, týp huyết thanh Inaba (chủng Phil. 6973)

50 tỉ vi khuẩn *V. cholerae* O139 týp sinh học mới (chủng 4260B)

Sản xuất**Chủng sản xuất**

Các chủng sản xuất (*V. cholerae* týp sinh học cổ điển, týp huyết thanh Inaba (chủng 569B), *V. cholerae* týp sinh học cổ điển, týp huyết thanh Ogawa (chủng Cairo 50), *V. cholerae* týp sinh học El Tor, týp huyết thanh Inaba (chủng Phil. 6973), *V. cholerae*, O139 týp sinh học mới (chủng 4260B) dùng để sản xuất vắc xin tả uống phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp nhận.

Nhận dạng và tính thuần khiết của chủng sản xuất
Xác định chỉ có vi khuẩn *V. cholerae* (với các týp sinh học trên), là trực khuẩn Gram âm, mảnh, hơi cong. Trên môi trường thạch máu: Khuẩn lạc tròn, bóng, hơi lồi. Có khuẩn lạc điển hình trên môi trường thạch TCBS. Lên men đường saccharose và mannose, không lên men đường arabinose.

Kiểm tra chủng sản xuất bằng phản ứng ngưng kết

Đánh dấu các vị trí trên lam kính. Nhỏ 20 µl kháng huyết thanh (Polyvalent, Inaba, Ogawa, O139) và nước muối sinh lý (K) vào các vị trí đã được đánh dấu trên lam kính. Nhỏ 20 µl canh khuẩn tả vào mỗi loại kháng huyết thanh trên. Trộn đều và đọc kết quả.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Chủng	Polyvalent	Inaba	Ogawa	O139	K
<i>V. cholerae</i> O1, El Tor, Phil. 6973	+	+	-	-	-
<i>V. cholerae</i> O139, 4260B	-	-	-	+	-
<i>V. cholerae</i> O1, 569B	+	+	-	-	-
<i>V. cholerae</i> O1, Cairo 50	+	-	+	-	-

Kiểm tra chủng sản xuất vắc xin tả trên thạch TCBS:

Lắc đều tếp chứa canh khuẩn tả, nhỏ 0,1 ml canh khuẩn vào đĩa thạch TCBS, dùng que cấy cấy rìa trên đĩa thạch. Ủ các đĩa thạch ở nhiệt độ $(32,5 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ trong 48 giờ. Theo dõi sự phát triển của khuẩn lạc và sự chuyển màu của môi trường nuôi cấy tại thời điểm 24 giờ và 48 giờ. Đọc kết quả sau 48 giờ.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Khuẩn lạc trong, môi trường TCBS từ màu xanh lá cây chuyển màu vàng.

Kiểm tra tính chất sinh vật hóa học của chủng sản xuất:

Lắc đều tếp chứa canh khuẩn tả, cấy 0,1 ml vào từng ống môi trường (Arabinose, Mannose, Saccharose). Ủ các ống môi trường ở nhiệt độ $(32,5 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ trong 48 giờ, theo dõi sự chuyển màu của môi trường. Đọc kết quả sau 48 giờ.

Dương tính (+): Môi trường chuyển sang màu vàng.

Âm tính (-): Môi trường giữ nguyên màu ban đầu.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Tính chất sinh vật hóa học của tất cả các chủng sản xuất vắc xin tả: Arabinose (-), Mannose (+), Saccharose (+).

Sản xuất

Vi khuẩn tả được nuôi cấy trên môi trường thích hợp. Kết thúc nuôi cấy, canh khuẩn được kiểm tra đậm độ vi khuẩn. Vi khuẩn tả được bất hoạt bằng formaldehyd hoặc nhiệt độ tùy từng chủng. Sau bất hoạt, vi khuẩn tả được thu bằng phương pháp li tâm hoặc lọc tiếp tuyền (TFF).

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm**Vô khuẩn**

Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Kiểm tra sau bất hoạt

Phương pháp tiến hành: Lắc đều tếp chứa canh khuẩn tả sau bất hoạt, cấy 0,5 ml canh khuẩn tả vào đĩa thạch máu ngựa 15 %, lóng đều. Mỗi mẫu thử cấy trên 02 đĩa thạch máu. Ủ các đĩa thạch trên vào tủ ấm $(32,5 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ trong 48 giờ. Theo dõi sự phát triển của vi khuẩn tả tại thời điểm 24 giờ và 48 giờ.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Không thấy sự phát triển của vi khuẩn tả trên đĩa thạch máu ngựa.

Đo đậm độ vi khuẩn (bằng bộ soi độ đục chuẩn)

Phương pháp tiến hành: Trộn kỹ mẫu nước cốt tả trên máy trộn. Dùng pipetman hút 100 μl mẫu thử cho vào ống thử của bộ soi độ đục, cho dần dần (X) ml dung dịch pha loãng PBS 0,01 M (pH 7,2) hoặc nước muối sinh lý vào cho đến khi độ đục của ống thử bằng với độ đục của ống chuẩn số 10. Đậm độ vi khuẩn tả được tính như sau:

Quy đổi thành 1 ml: 0,1 ml nước cốt + X ml dung dịch pha loãng $\times 10 = Y$ ml

Đậm độ của mẫu cần đo = $(Y \text{ ml} \times 2,2) \times 10^9$ vi khuẩn/ml (ống số 10 của bộ soi độ đục chuẩn tương đương $2,2 \times 10^9$ vi khuẩn/ml).

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng**Vô khuẩn**

Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

An toàn không đặc hiệu

Thử nghiệm tăng trọng trên chuột nhắt trắng Swiss.

Phương pháp tiến hành: Tiến hành kiểm tra trên chuột nhắt trắng 14 g đến 16 g, chuột được chia làm 2 nhóm: Nhóm tiêm mẫu thử và nhóm chuột chứng (10 chuột /mẫu thử và 10 chuột/mẫu chứng). Chuột được cân trọng lượng (P_0) trước khi tiêm. Mẫu thử được đo độ đục và pha loãng để có 8×10^9 vi khuẩn/ml. Tiêm phúc mạc 0,5 ml/chuột.

Theo dõi chuột sau khi tiêm:

Chuột sau khi tiêm được chăm sóc và theo dõi trong 7 ngày.

Cân chuột vào các ngày thứ nhất, thứ ba, thứ năm và thứ bảy sau khi tiêm. Ghi kết quả vào phiếu theo dõi.

Tính kết quả:

Giá trị của thử nghiệm: Thử nghiệm chỉ có giá trị khi chuột ở nhóm chứng không chết, khỏe mạnh, tăng trọng bình thường.

Công thức tính:

*Tính trọng lượng chênh lệch:

$$P_{(t,k)} = \frac{P_{3(7)} - P_0}{N}$$

Trong đó:

$P_{(t,k)}$ là trọng lượng chênh lệch giữa ngày thứ 3 hoặc ngày thứ 7 với ngày tiêm của nhóm thử/nhóm chứng;

P_0 , P_3 , P_7 là trọng lượng trung bình của nhóm chuột vào ngày tiêm 0, ngày thứ 3, ngày thứ 7;

N là số chuột từng nhóm.

*Tính phần trăm tăng trọng:

$$\% \text{ tăng trọng} = \frac{P_{7(t)}}{P_{7(k)}} \times 100 \%$$

Trong đó:

$P_{7(t)}$ là trọng lượng chênh lệch giữa ngày thứ 7 với ngày tiêm của nhóm thử;

$P_{7(k)}$ là trọng lượng chênh lệch giữa ngày thứ 7 với ngày tiêm của nhóm chứng.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Tỷ lệ chuột chết 0 %; trọng lượng trung bình ngày thứ 3 ít nhất bằng ngày tiêm; trọng lượng trung bình ngày thứ 7 ít nhất đạt 60 % so với nhóm chứng.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Cảm quan

Mẫu kiểm định của mỗi loạt thành phẩm sẽ phải được kiểm tra bằng mắt thường. Nếu kết quả kiểm tra cho thấy có sự bất thường, không theo đúng yêu cầu thì cần phải hủy bỏ.

Vô khuẩn

Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

pH

6,8 đến 7,4 (Phụ lục 15.33).

Protein toàn phần

Không quá 2 % (Phụ lục 15.34).

Formaldehyd

Hàm lượng formaldehyd tồn dư không quá 0,02 % (Phụ lục 15.25).

Thimerosal

Không quá 0,02 % (Phụ lục 15.29).

An toàn không đặc hiệu

Thử nghiệm tăng trọng trên chuột nhắt trắng Swiss.

Phương pháp tiến hành: Như kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Tiêu chuẩn: Tỷ lệ chuột chết 0 %, trọng lượng trung bình ngày thứ 3 ít nhất bằng ngày tiêm, trọng lượng trung bình ngày thứ 7 ít nhất đạt 60 % so với nhóm chứng.

Thử nghiệm công hiệu

Thử nghiệm công hiệu được tiến hành trên thỏ không có kháng thể kháng vi khuẩn tả. Mỗi loạt vắc xin tả uống cần 3 thỏ có trọng lượng từ 2 kg đến 2,2 kg.

Vắc xin tả uống được pha loãng trong dung dịch PBS 0,01 M (pH = 7,2) hoặc nước muối sinh lý để đạt 4 tỉ vi khuẩn/ml. Gây miễn dịch cho thỏ bằng cách tiêm vào bắp chân sau, mỗi thỏ 1 ml vắc xin đã được pha loãng như trên. Mỗi thỏ được tiêm ba mũi, mỗi mũi cách nhau 1 tuần (vào các ngày 0, 7 và 14). Sau tiêm, thỏ được chăm sóc, theo dõi hàng ngày.

Đến ngày thứ 24, thỏ được lấy máu và tách huyết thanh trong điều kiện vô khuẩn. Tiến hành phản ứng ngưng kết trong ống nghiệm giữa huyết thanh thỏ và các vi khuẩn tả mẫu. Huyết thanh của mỗi thỏ được pha loãng bậc 2 thành các độ pha: 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320 và 1/640.

Kháng nguyên vi khuẩn tả gồm 3 chủng 569B, Cairo 50 và Phil. 6973 được đo đậm độ vi khuẩn và pha loãng để có 1 tỉ vi khuẩn/ml.

Tiến hành phản ứng ngưng kết từng loại kháng nguyên đặc hiệu với huyết thanh thỏ ở các bậc pha loãng khác nhau. Đọc kết quả sau 48 giờ.

Kết quả: Hiệu giá huyết thanh được tính ở độ pha loãng thấp nhất vẫn có hiện tượng ngưng kết.

Tiêu chuẩn: Công hiệu của vắc xin tả uống đạt yêu cầu khi hiệu giá trung bình từng loại kháng nguyên $\geq 1/80$.

Đóng gói và bảo quản

Vắc xin tả uống bất hoạt được đóng trong lọ thủy tinh trung tính. Bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, không được để đông băng.

Hạn dùng

Hạn dùng của vắc xin được nghiên cứu dựa trên tính ổn định của công hiệu trên ít nhất 3 loạt liên tiếp (được sản xuất từ 3 loạt bán thành phẩm riêng biệt). Các loạt vắc xin dùng trong thời gian nghiên cứu phải được bảo quản ở điều kiện như trên từ hướng dẫn sử dụng.

Vắc xin tả uống bất hoạt có hạn dùng không quá 2 năm kể từ sau ngày sản xuất.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

Cách dùng, liều dùng

Vắc xin tả uống bất hoạt chỉ dùng đường uống.

Liều dùng: 1,5 ml/người.

Lịch dùng: 2 liều cách nhau 14 ngày.

VẮC XIN THƯƠNG HÀN UỐNG

Vaccinum febris typhoidi perorale vivum

Định nghĩa

Vắc xin thương hàn uống, sống, giảm độc lực là một chế phẩm đông khô chứa trong viên bọc gelatin; điều chế từ chủng *Salmonella typhi* Ty 21a, đã được nuôi cấy trên môi trường thích hợp. Trong mỗi viên chứa $1-5 \times 10^9$ đơn vị sống Ty 21a.

Sản xuất

Chủng sản xuất

Chủng đột biến *S. typhi* Ty 21a đã cho thấy đạt tính an toàn và có hiệu lực trên người. Đặc điểm chính của chủng này là thiếu hụt enzym uridin diphosphat - galactose-4-epimerase. Hoạt tính của galactopermease, galactokinaes và galactose-1-phosphat uridyl-transferase đã bị giảm 50 % đến 90 %. Ở bất kể môi trường nuôi cấy nào, chủng vi khuẩn này cũng không chứa kháng nguyên Vi. Chủng này chỉ ngưng kết với kháng huyết thanh kháng O:9 nếu phát triển trên môi trường có chứa galactose. Chủng có chứa kháng nguyên H:d và không sinh hydrogen sulphid trên môi trường thạch

Kligler có chứa sắt. Chúng không độc với chuột nhắt trắng. Chúng Ty 21a sẽ gây dung giải nếu phát triển trên môi trường có chứa 1 % galactose.

Dùng hệ thống chủng gốc để sản xuất vắc xin.

Sản xuất chủng gốc: Từ một khuẩn lạc đơn sẽ được nuôi cấy trên môi trường thích hợp (canh thang BHI phù hợp với mục đích này) không có galactose và ủ ở nhiệt độ thích hợp cho phát triển tối ưu. Khi nuôi cấy đã đạt đến pha ổn định, canh khuẩn sẽ được gặt, ly tâm tách cạn và cho vào ống. Sau đó pha chế thành huyền dịch có đậm độ thích hợp và tiến hành đông khô, sao cho mỗi ống có chứa ít nhất 10^9 đơn vị sống của chủng. Các ống chủng gốc sau khi đông khô được bảo quản ở $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$.

Sản xuất chủng làm việc: Chủng làm việc được sản xuất từ một ống chủng gốc. Quá trình nuôi cấy, gặt, ly tâm lấy cạn, pha chế và đông khô cũng theo trình tự như đối với chủng gốc. Mỗi ống chủng làm việc đông khô phải chứa ít nhất 10^9 đơn vị sống của chủng. Các ống chủng làm việc sau khi đông khô được bảo quản ở $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$.

Kiểm tra chủng sản xuất

Nhận dạng và tính thuần khiết

Xác định chỉ có vi khuẩn Ty 21a, là trực khuẩn Gram âm, di động.

Nuôi cấy qua 3 lần chuyển chủng trên môi trường có hoặc không có galactose, ngưng kết với kháng huyết thanh H:d, không ngưng kết với kháng huyết thanh Vi. Ngược lại chỉ những khuẩn lạc phát triển trên môi trường có chứa galactose (1 g/lít) mới ngưng kết với kháng huyết thanh O:9.

Khi nuôi cấy trên môi trường thạch Endo và ủ ở 37°C trong 7 ngày, mọc khuẩn lạc có màu môi trường, có hiện tượng ly giải và dần dần trở nên trong suốt. Các khuẩn lạc lên men galactose sẽ không xuất hiện tại bất kỳ thời điểm nào trong 7 ngày ủ ở 37°C .

Trên môi trường nuôi cấy chỉ thị có chứa galactose ủ ở 37°C trong 48 giờ, xuất hiện khuẩn lạc lõm ở giữa, viền có màu xanh xám và giữa có màu sẫm cho đến khi chết và ly giải giống như chủng Ty 21a trên môi trường thạch có chứa galactose.

Nuôi cấy trên môi trường thạch Kligler có chứa sắt, khuẩn lạc không đen, chứng tỏ không sinh hydrogen sulphid.

Gây ly giải vi khuẩn trên môi trường nuôi cấy có galactose:

Nuôi cấy lắc trên môi trường BHI (với hàm lượng galactose 100 g/lít môi trường) ở 37°C , vi khuẩn bị ly giải trong vòng 1 giờ.

Kiểm tra độc tính trên chuột nhắt trắng

Chủng vi khuẩn nuôi cấy trên môi trường BHI và ủ ở 37°C trong 6 giờ, được tiêm vào ổ bụng cho 5 chuột nhắt trắng (18 - 20) g. Huyền dịch vi khuẩn có chứa ít nhất 5×10^7 vi khuẩn sẽ không giết chết chuột trong vòng 7 ngày theo dõi.

Xác định các enzym (bao gồm cả các enzym trong quá trình lên men galactose):

Thử nghiệm cho thấy vi khuẩn Ty 21a có hoạt tính enzym thấp hơn so với chủng Ty 2. Khi so sánh hoạt tính của chủng Ty 2 (coi là 100 %) thì hoạt tính của chủng Ty 21a là 0 % epimerase, 5 % đến 20 % galactokinase, 25 % đến 50 % galactose-1-phosphat-uridyltransferase và 40 % đến 50 % galactose-permease.

Sự hấp thu và phân bố nội tế bào của galactose ^{14}C :

Sau 7 giờ nuôi cấy ở 30°C , ít nhất 90 % galactose trong môi trường (1g/lít) bị mất do chủng vi khuẩn (bằng cách đo ^{14}C trên tế bào). Phương pháp thử nghiệm cũng cho thấy có khoảng 75 % galactose định cư trên vách tế bào vi khuẩn.

Đặc tính của lipopolysaccharid (LPS)

Lipopolysaccharid chiết xuất từ vách tế bào của chủng vi khuẩn thương hàn Ty 21a được nuôi cấy trong môi trường BHI có chứa galactose ^{14}C (1 g/lít), ủ ở 30°C trong 7 giờ, sẽ bị thủy phân trong dung dịch acid acetic 1 % và được kiểm tra polysaccharid. Sử dụng phương pháp sắc ký gel, dùng Sephadex G50; những vi khuẩn thương hàn của cả loại khuẩn lạc nhẵn và xù xì đều có chứa LPS, theo tỷ lệ tương đương đối với chủng độc *S. typhi* Ty 2. Hơn nữa, sự phân bố của các đường keto-deoxy-octonat (KDO), galactose, glucose và rhamnose của LPS đạt tỷ lệ tương đương giữa chủng Ty 2 và Ty 21a.

Yêu cầu trong quy trình sản xuất

Môi trường nuôi cấy chủng sản xuất không được gây ra phản ứng độc hại hay dị ứng cho người.

Chủng sản xuất được nuôi cấy và ủ ở nhiệt độ thích hợp trong khoảng thời gian đủ để đạt tới pha ổn định sớm thì tiến hành gặt. Số lần cấy chuyển từ chủng làm việc cho đến khi lên men cuối cùng không được vượt quá 4 lần.

Trước khi ly tâm sản phẩm lên men: Cần lấy mẫu kiểm tra nhận dạng của chủng Ty 21a, kiểm tra độ sống trên môi trường thạch BHI và ủ ở 37°C trong 36 giờ.

Sau ly tâm, lấy sinh khối của các mẻ gặt đơn pha thành huyền dịch ổn định (hoặc vãn để riêng các mẻ gặt đơn) và giữ trong đông băng cho đến khi đông khô.

Kiểm định bán thành phẩm cuối cùng

Nhận dạng: Các mẫu thử dạng bột sẽ được hoàn nguyên và kiểm tra nhận dạng như trong mục "Nhận dạng và tính thuần khiết".

Độ sống: Xác định độ sống theo trọng lượng. Kết quả độ sống của quá trình đông khô tối thiểu phải đạt được 10 % so với các mẻ gặt đơn trước khi đông khô.

Tiêu chuẩn độ sống: Không ít hơn 40×10^9 đơn vị sống *S. typhi* Ty 21a/g.

Độ ẩm tồn dư: Phụ lục 15.35

Bán thành phẩm cuối cùng sẽ phải được kiểm tra độ ẩm tồn dư và giá trị này không được vượt quá giới hạn quy định của cơ quan kiểm định quốc gia.

Có 2 phương pháp phổ biến được áp dụng cho thử nghiệm này. Khi sử dụng phương pháp Karl Fischer (Phụ lục 10.3) để kiểm tra thì độ ẩm tồn dư trong bán thành phẩm cuối cùng phải dưới 3 %. Nếu sử dụng phương pháp semi-micro để kiểm tra thì độ ẩm tồn dư trong mẫu bán thành phẩm cuối cùng phải nằm trong khoảng 1,5 % đến 4,0 %.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Từ bán thành phẩm cuối cùng đông khô, đã được làm đồng nhất hoàn toàn và đếm số lượng đơn vị sống; nếu không ít hơn $2 - 5 \times 10^9$, sẽ đóng vào 1 viên bọc gelatin; để đảm bảo khi đóng viên, mỗi viên là một liều cho người và chứa tối thiểu 2×10^9 đơn vị sống vắc xin.

Mẫu kiểm định thành phẩm sẽ được lấy từ mỗi viên vắc xin và làm các thử nghiệm dưới đây:

Nhận dạng: Kiểm tra nhận dạng với 3 viên cho mỗi mẫu thử theo phương pháp như mô tả ở phần “Nhận dạng và tính thuần khiết”

Độ sống

Kiểm tra độ sống với 5 viên cho mỗi mẫu thử. Kết quả độ sống của mẫu thử được coi như công hiệu của loạt vắc xin thương hàn uống sống giảm độc lực Ty 21a.

Thử nghiệm độ sống của mỗi loạt vắc xin sẽ phải được kiểm tra trên 2 mẫu song song và kết quả là giá trị trung bình độ sống của 2 mẫu này.

Quy trình kiểm tra độ sống cho mỗi mẫu thử: Cho toàn bộ bột vắc xin của 5 viên vào mỗi bình cổ chứa bi thủy tinh đã được sấy vô trùng, cho tiếp 20 ml nước muối sinh lý (NMSL) vô khuẩn vào mỗi bình trên. Lắc các bình mẫu trên bằng máy lắc rung 200 vòng/phút và đặt trong buồng lạnh 4 °C trong 30 phút. Dùng huyền dịch vắc xin trên, pha loãng bằng NMSL và tùy theo số đơn vị sống có trong mỗi viên vắc xin mà mức độ pha loãng đến đâu sẽ dừng lại cho thích hợp. Nhỏ huyền dịch vắc xin pha loãng ở độ pha thích hợp vào ít nhất 5 đĩa thạch BHI, với thể tích 0,1 ml/đĩa và ủ ở 35 °C đến 37 °C trong 30 giờ đến 36 giờ hoặc lâu hơn. Đếm số lượng khuẩn lạc trong các đĩa môi trường và tính số lượng khuẩn lạc trung bình của mỗi mẫu thử. Từ kết quả này sẽ tính được số khuẩn lạc trung bình của 2 mẫu thử kiểm tra song song.

Ví dụ: Huyền dịch vắc xin sau khi đã được lắc rung trong buồng lạnh theo quy trình như trên sẽ được pha loãng bậc 10 bằng NMSL vô khuẩn đến 10^{-6} . Cây huyền dịch vắc xin ở độ pha loãng 10^{-6} vào tối thiểu 5 đĩa thạch BHI với thể tích 0,1 ml/đĩa; áp dụng công thức sau để tính độ sống trung bình của dung dịch gốc:

$$X = C \times 20 \times 10^6$$

Trong đó:

X là đơn vị sống;

C là số khuẩn lạc trung bình của 2 mẫu thử.

Từ kết quả trên, tính ra số đơn vị sống (Y) trong 1 viên vắc xin thương hàn uống Ty 21a theo công thức sau:

$$Y = \frac{X}{5}$$

Tiêu chuẩn chấp thuận: Độ sống không được thấp hơn 2×10^9 đơn vị sống *S. typhi* Ty 21a trong 1 viên bọc gelatin.

Độ tạp nhiễm

Sử dụng ít nhất 3 viên vắc xin cho một mẫu thử nghiệm. Lựa chọn môi trường thích hợp để có thể kiểm tra, phát hiện sự có mặt của các vi khuẩn gây bệnh như *Salmonella* (trừ Ty 21a), *Shigella*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* và *Vibrio parahaemolyticus*.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Vắc xin đạt yêu cầu khi không có mặt của các yếu tố gây bệnh nêu trên. Số lượng đơn vị sống tạp nhiễm không gây bệnh trong một liều vắc xin uống cho người (1 viên) không được vượt quá 2×10^2 vi khuẩn và 20 nấm.

An toàn không đặc hiệu

Mỗi loạt thành phẩm vắc xin thương hàn uống Ty 21a phải được kiểm tra an toàn không đặc hiệu bằng cách tiêm 0,01 liều vắc xin cho người vào ổ bụng cho mỗi trong số 5 chuột nhắt trắng trọng lượng 18 g/con đến 22 g/con; và cho uống 1 liều vắc xin cho người cho mỗi trong số 3 chuột lang (trọng lượng 250 g/con đến 350 g/con).

Chuột nhắt được theo dõi trong vòng 7 ngày sau khi tiêm, chuột lang được theo dõi trong 14 ngày sau khi uống vắc xin.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Không có chuột nào có biểu hiện nhiễm khuẩn trong khoảng thời gian theo dõi.

Tính ổn định

Vắc xin ở dạng thành phẩm sẽ phải được kiểm tra tính ổn định bằng phương pháp được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận. Thông thường tính ổn định của vắc xin này được đánh giá bằng kết quả độ sống.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Độ sống không được thấp hơn 2×10^9 đơn vị sống *S. typhi* Ty 21a trong 1 viên bọc gelatin trong suốt thời hạn sử dụng mà nhà sản xuất đã đề trình.

Cảm quan

Mẫu kiểm định của mỗi loạt thành phẩm sẽ phải được kiểm tra bằng mắt thường. Nếu kết quả kiểm tra cho thấy có sự bất thường không theo đúng yêu cầu cần phải hủy bỏ.

Đóng gói, bảo quản, hạn dùng**Đóng gói và dán nhãn**

Do không thể dán nhãn trên viên bọc gelatin nên trên vỉ, trên hộp và tờ hướng dẫn sử dụng cần ghi đầy đủ các thông tin theo quy định chung và đặc biệt ghi rõ: số đơn vị sống tối thiểu của một viên vắc xin và chỉ dùng để uống.

Bảo quản

Nhà sản xuất sẽ đưa ra điều kiện bảo quản và vận chuyển cho sản phẩm để đảm bảo rằng các dạng vắc xin này khi được bảo quản trong điều kiện thích hợp sẽ vẫn đạt được các tiêu chuẩn cho đến hết hạn sử dụng. Thông thường, vắc xin này ở dạng viên bọc gelatin sẽ phải được bảo quản trong điều kiện khô và tối ở $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

Hạn sử dụng

Hạn sử dụng của vắc xin dạng viên bọc không được quá 18 tháng tính từ ngày sản xuất. Nếu số liệu cho thấy tính ổn định của sản phẩm dài hơn thì hạn dùng có thể kéo dài hơn.

VẮC XIN THƯƠNG HÀN VI POLYSACCHARID***Vaccinum Vi polysaccharidi Typhoidi*****Định nghĩa**

Vắc xin thương hàn Vi polysaccharid là một chế phẩm tinh chế từ vỏ Vi polysaccharid của vi khuẩn. Polysaccharid này được điều chế từ chủng *Salmonella typhi* Ty2 hoặc một chủng thích hợp khác có khả năng sản sinh ra Vi polysaccharid.

Vỏ Vi polysaccharid gồm các đơn vị lặp lại của acid N-acetyl - α -galactosaminuronic bằng liên kết 1 - 4, được acetyl hoá ở O-3.

Sản xuất**Chủng sản xuất**

Chủng *Salmonella typhi* dùng để sản xuất vắc xin Vi polysaccharid phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận. Chủng này phải cho thấy có khả năng sản sinh ra Vi polysaccharid với sản lượng ổn định, đủ đáp ứng miễn dịch và an toàn cho người.

Phương pháp sản xuất phải được thẩm định và chứng minh rằng sản phẩm (nếu được kiểm tra) sẽ hoàn toàn đạt các yêu cầu về an toàn không đặc hiệu đối với huyết thanh miễn dịch và vắc xin cho người sử dụng.

Chủng *S. typhi* Ty2 đã cho thấy là một chủng thích hợp để sản xuất vắc xin thương hàn Vi polysaccharid.

Chỉ có chủng đạt các đặc tính như sau mới được dùng để sản xuất vắc xin: Nhuộm soi sau nuôi cấy phải có hình dạng đặc trưng của *S. typhi*; trong môi trường nuôi cấy, có lên men đường glucose nhưng không sinh hơi; oxidase âm tính; huyền dịch vi khuẩn ngưng kết đặc hiệu với huyết thanh kháng Vi thích hợp hoặc khuẩn lạc có quang sáng xung quanh, trên môi trường thạch đĩa có chứa kháng huyết thanh đặc hiệu.

Sản xuất chủng gốc và chủng sản xuất

Chủng gốc sẽ phải được ghi chép bằng hồ sơ chủng, bao gồm cả nguồn gốc chủng, và các đặc tính sinh hoá, huyết thanh học. Các nuôi cấy từ chủng sản xuất sẽ phải có cùng đặc tính như nuôi cấy từ chủng gốc. Chủng sản xuất phải đạt các tiêu chuẩn như chủng gốc.

Nuôi cấy và gặt

Sự phát triển của chủng *S. typhi* phải cho thấy có tính ổn định bằng cách giám sát tỷ lệ mọc của vi khuẩn, pH của nuôi cấy và sản lượng của Vi polysaccharid. Thông thường nuôi cấy chủng ở 35°C đến 37°C . Chủng làm việc (chủng sản xuất, working seed) có thể nuôi cấy trên môi trường đặc, ủ 12 giờ đến 18 giờ ở 35°C đến 37°C ; sau đó cấy chuyển sang môi trường lỏng (là canh khuẩn để cấy vào môi trường nuôi cấy cuối cùng). Môi trường nuôi cấy cuối cùng là môi trường bán tổng hợp, không chứa chất đã được kết tủa bởi cetrimoni bromid và không chứa các sản phẩm từ máu hoặc các polysaccharid có khối lượng phân tử cao, và ít nhất phải chứng minh rằng chúng đã được loại bỏ sau khi tinh chế.

Sự thuần khiết của vi khuẩn sau khi nuôi cấy phải được khẳng định bằng cách kiểm tra tiêu bản nhuộm soi dưới kính hiển vi (độ phóng đại ít nhất 1 000 lần) và bằng nuôi cấy trong môi trường đặc thích hợp. Canh khuẩn nuôi cấy được bất hoạt vào thời điểm bắt đầu pha ổn định bằng cách thêm formaldehyd. Các tế bào vi khuẩn phải được loại bỏ bằng cách ly tâm, polysaccharid được rửa từ môi trường nuôi cấy bằng cách thêm cetrimonium bromid (hexadecyltrimethylammonium bromid). Tủa polysaccharid được gặt và bảo quản ở -20°C trước khi tinh chế.

Tinh chế Vi polysaccharid

Polysaccharid được tinh chế bằng cách rửa với phức hợp cetrimoni bromid, dùng quy trình thích hợp để loại bỏ acid nucleic, các protein và lipopolysaccharid. Polysaccharid sẽ được rửa với muối calci trong sự có mặt của ethanol (TT) và làm khô ở 2°C đến 8°C . Bột thu được chính là Vi polysaccharid tinh chế. Độ ẩm tồn dư phải được kiểm tra theo phương pháp phân tích trọng lượng và cho thấy thấp hơn so với mẫu chuẩn.

Chỉ Vi polysaccharid tinh chế đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được sử dụng để pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng:

Protein: Không quá 10 mg/g polysaccharid.

Acid nucleic: Không quá 20 mg/g polysaccharid.

O-Acetyl: Không thấp hơn 2 mmol/g polysaccharid.

Kích thước phân tử: Kiểm tra bằng sắc ký cột, dùng cột dài 0,9 m và đường kính lòng ống 16 mm, chuẩn cột với dung dịch natri clorid 0,2 mol/kg, pH 7,0 đến 7,5. Dùng 5 mg polysaccharid cho vào 1 ml dung dịch natri clorid 0,2 mol/kg và rót vào cột, rửa giải với tốc độ 20 ml/h. Thu thập mẫu khoảng 2,5 ml. Kiểm tra

điểm đáp ứng với $K_D = 0,25$ và làm 2 thể tích mẫu dung dịch rửa giải trước và sau điểm đáp ứng. Tiến hành xác định hàm lượng O-Acetyl của cả 2 mẫu trên. Không được thấp hơn 50 % polysaccharid được tìm thấy ở mẫu dung dịch rửa giải ra trước khi $K_D = 0,25$.

Nhận dạng: Dùng phương pháp hóa miễn dịch thích hợp.

Endotoxin của vi khuẩn: Không được quá 150 IU/ μ g polysaccharid.

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Bán thành phẩm cuối cùng được điều chế từ một hoặc nhiều loạt đơn Vi polysaccharid tinh chế. Nếu sử dụng bán thành phẩm này để đóng lọ đa liều thì phải cho thêm chất bảo quản chống nhiễm trùng và được hòa tan trước trong một dung môi thích hợp, sao cho sản phẩm cuối cùng chứa 25 μ g polysaccharid/1 liều tiêm cho người. Hàm lượng chất bảo quản trong bán thành phẩm cuối cùng không được gây biến tính Vi polysaccharid và các thành phần khác của vắc xin. Vắc xin bán thành phẩm được pha chế (trong điều kiện vô trùng) trong dung dịch không có chứa chất gây sốt và được lọc vô trùng qua màng lọc.

Bán thành phẩm cuối cùng chỉ được phép pha chế thành thành phẩm khi đạt các yêu cầu sau:

Vô khuẩn: Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Thimerosal: Đạt theo Phụ lục 15.29

Hàm lượng Vi polysaccharid: Dùng thử nghiệm hóa miễn dịch định lượng đã được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận để xác định hàm lượng Vi polysaccharid của mẫu bán thành phẩm cuối cùng (Phụ lục 15.37).

Nhận dạng: Dùng thử nghiệm huyết thanh học, dựa vào sự kết tủa miễn dịch.

Đóng ống và đóng gói

Quá trình đóng ống và đóng gói phải tuân thủ GMP.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Các thử nghiệm dưới đây phải được tiến hành với mỗi loạt vắc xin thành phẩm.

Cảm quan

Vắc xin dạng lỏng, trong suốt, không màu, không có vật thể lạ mắt thường có thể nhìn thấy và không có những dấu hiệu bất thường khác như: Lông nút, nắp, hàn không đạt yêu cầu...

Nhận dạng: Thử nghiệm nhận dạng được tiến hành bằng phương pháp hóa miễn dịch thích hợp.

Xác định hàm lượng Vi polysaccharid

Lấy mẫu ngẫu nhiên, ít nhất 3 lọ (hoặc ống), xác định hàm lượng Vi polysaccharid bằng thử nghiệm hóa miễn dịch định lượng, so sánh với mẫu chuẩn polysaccharid (Phụ lục 15.37).

Vô khuẩn: Phải đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Chất gây sốt

Mỗi loạt vắc xin thành phẩm phải được kiểm tra chất gây sốt bằng cách tiêm vắc xin thương hàn Vi polysaccharid có nồng độ 25 μ g Vi polysaccharid/ml vào tĩnh mạch tai thỏ (1 ml/kg thể trọng thỏ) (Phụ lục 15.12).

An toàn không đặc hiệu

Loạt vắc xin thành phẩm thương hàn Vi polysaccharid đạt yêu cầu về an toàn không đặc hiệu khi tất cả các chuột thử nghiệm đều sống sót và không bị giảm cân trong ít nhất 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Chất bảo quản

Thimerosal: Đạt theo Phụ lục 15.29

Phenol (Nếu được sử dụng để điều chế vắc xin) thì không được nhiều hơn 2,5 g/l (Phụ lục 15.28).

Độ ẩm tồn dư (Nếu vắc xin ở dạng đông khô)

Phương pháp áp dụng phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận. Thông thường sử dụng phương pháp Karl Fischer. Lấy mẫu ngẫu nhiên để kiểm định theo tỷ lệ 1/1000 lọ, tuy nhiên tối đa là 10 lọ và cũng không được ít hơn 5 lọ (Phụ lục 15.35).

Tiêu chuẩn chấp thuận: Độ ẩm tồn dư trung bình giữa các lọ không được lớn hơn 3,5 %, không được lọ nào có độ ẩm tồn dư 3 % hoặc lớn hơn.

pH: $7,0 \pm 0,5$ (Phụ lục 15.33).

Nghiên cứu tính ổn định

Nghiên cứu tính ổn định phải được tiến hành để xác định hạn dùng của vắc xin thương hàn Vi polysaccharid. Nghiên cứu này có thể dựa trên các thử nghiệm xác định hàm lượng O-Acetyl và kích thước phân tử của ít nhất là 3 loạt vắc xin thành phẩm (các loạt vắc xin thành phẩm này phải được sản xuất từ những bán thành phẩm Vi polysaccharid tinh chế riêng biệt). Các loạt vắc xin dùng trong thời gian nghiên cứu phải được bảo quản ở điều kiện như ghi trên hướng dẫn dành cho người sử dụng.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Kích thước phân tử của mỗi loạt vắc xin thành phẩm phải đạt ít nhất 50 % Vi polysaccharid từ cột được rửa giải trước khi K_D đạt tới 0,25. Thử nghiệm về tính ổn định phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận.

Đóng gói

Việc đóng gói, dán nhãn phải tuân thủ theo GMP.

Các tuyên bố về hạn dùng và nhiệt độ bảo quản sẽ phải dựa trên những nghiên cứu về tính ổn định của vắc xin và phải đệ trình lên cơ quan kiểm định quốc gia về vắc xin và sinh phẩm.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

Bảo quản

Nhiệt độ bảo quản 2 °C đến 8 °C.

Hạn sử dụng

Không được quá 3 năm kể từ ngày đóng ống thành phẩm.

VẮC XIN UỐN VÁN HẤP PHỤ***Vaccinum Tetani adsorbatum*****Định nghĩa**

Vắc xin uốn ván hấp phụ được điều chế từ độc tố uốn ván đã được xử lý bằng formaldehyd và nhiệt độ để mất tính độc mà vẫn còn tính sinh miễn dịch, chứa ít nhất 1000 Lf/ mg nitrogen protein và hấp phụ với một tá chất thích hợp như nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd trong dung dịch muối đẳng trương. Có thể cho thêm chất bảo quản thích hợp.

Sản xuất

Sản xuất vắc xin phải dựa trên hệ thống chủng. Chủng *Clostridium tetani* được nuôi cấy trên môi trường thích hợp. Kết thúc giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những mẻ nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông. Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc bằng formaldehyd và nhiệt độ rồi tinh chế theo phương pháp thích hợp.

Số lượng Lf trong vắc xin bán thành phẩm không vượt quá 25 Lf trong một liều đơn cho người nếu sử dụng nhiều hơn một liều cho miễn dịch cơ bản.

Hàm lượng chất bảo quản phải không gây hại đến giải độc tố và không gây ra những phản ứng ở người.

Giải độc tố tinh chế bán thành phẩm

Chủng sản xuất *Clostridium tetani* phải có độc tính cao, biết rõ về nguồn gốc và lịch sử chủng. Thu độc tố uốn ván trong môi trường nuôi cấy ở điều kiện vô trùng. Xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông để giám sát tính ổn định trong sản xuất. Giải độc tố uốn ván được tinh chế để loại bỏ các thành phần có thể gây các phản ứng phụ cho người. Độc tố sau khi tinh chế sẽ được bất hoạt bằng formaldehyd theo phương pháp thích hợp sao cho không ảnh hưởng đến khả năng sinh miễn dịch của giải độc tố và không bị hồi độc. Tuy nhiên, có thể lựa chọn quy trình tinh chế sau khi giải độc.

Chỉ có những giải độc tố tinh chế bán thành phẩm đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được sử dụng để pha vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô khuẩn

Tiến hành kiểm tra tính vô khuẩn của giải độc tố uốn ván tinh chế bán thành phẩm với 10 ml mẫu cho mỗi môi trường kiểm tra (Phụ lục 15.7).

Tính độc đặc hiệu và tính hồi độc

Kiểm tra tính độc đặc hiệu: Tiêm dưới da 1 ml giải độc tố tinh chế có chứa 500 Lf/ml/con cho 5 chuột lang khỏe mạnh (250 - 350) g/con chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích gì trước đó. Theo dõi và kiểm tra trọng lượng chuột, các dấu hiệu liệt do uốn ván hàng tuần trong vòng 3 tuần. Những chuột chết phải được mổ kiểm tra. Giải độc tố uốn ván tinh chế đạt yêu cầu an toàn đặc hiệu khi không có chuột lang nào có dấu hiệu liệt do uốn ván hay bất kỳ triệu chứng uốn ván nào trong 3 tuần theo dõi và có ít nhất 80 % chuột sống sót trong giai đoạn thử nghiệm.

Kiểm tra tính hồi độc của giải độc tố uốn ván

Giải độc tố uốn ván tinh chế phải được kiểm tra để đảm bảo không bị hồi độc. Sử dụng dung dịch đệm giống như dung dịch pha vắc xin bán thành phẩm cuối cùng nhưng không có chất hấp phụ để pha mẫu giải độc tố uốn ván tinh chế bán thành phẩm thành huyền dịch chứa 12,5 Lf/ml. Chia thành 2 mẫu thử, trong đó một mẫu ủ ở (5 ± 3) °C trong 6 tuần và mẫu kia ủ ở 37 °C trong 6 tuần. Tiêm dưới da 5 ml/con, mỗi mẫu tiêm cho 5 chuột lang khỏe mạnh (250 - 350) g/con chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích gì trước đó. Thử nghiệm đạt yêu cầu khi cả 2 nhóm chuột đều khỏe mạnh, không có chuột lang nào có dấu hiệu uốn ván trong 3 tuần theo dõi.

Độ tinh sạch của kháng nguyên uốn ván

Giải độc tố uốn ván tinh chế phải được kiểm tra độ tinh sạch của kháng nguyên bằng cách kiểm tra hàm lượng kháng nguyên (Lf/mg nitrogen protein). Giá trị Lf được kiểm tra bằng cách so sánh với mẫu chuẩn đã được hiệu chuẩn bởi giải độc tố uốn ván mẫu chuẩn quốc tế dành cho thử nghiệm lên bông hoặc mẫu chuẩn quốc gia tương đương.

Giải độc tố uốn ván tinh chế đạt yêu cầu khi chứa không được ít hơn 1000 Lf/mg nitrogen protein.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được pha chế từ giải độc tố uốn ván tinh chế, cho thêm nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd với hàm lượng thích hợp. Có thể cho thêm chất kháng khuẩn thích hợp. Chỉ những vắc xin bán thành phẩm cuối cùng đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được phép tiếp tục sản xuất thành vắc xin thành phẩm.

Chất bảo quản

Xác định hàm lượng chất bảo quản bằng phương pháp hóa học thích hợp. Hàm lượng chất kháng khuẩn trong vắc xin bán thành phẩm phải đạt ít nhất là 85 % và không được quá 115 % so với lượng dự kiến cho vào (Phụ lục 15.29).

Vô khuẩn

Tiến hành kiểm tra tính vô khuẩn của vắc xin bán thành phẩm cuối cùng với 10 ml mẫu cho mỗi môi trường kiểm tra. Không nhiễm vi khuẩn và nấm (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng

Thực hiện ít nhất trên một lọ vắc xin đã được dán nhãn.

Nhận dạng giải độc tố uốn ván bằng thử nghiệm lên bông như mô tả trong Phụ lục 15.19.

Vô khuẩn

Vắc xin không nhiễm vi khuẩn và nấm (Phụ lục 15.7).

Công hiệu

Thực hiện theo Phụ lục 15.23.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Công hiệu của vắc xin uốn ván đơn hấp phụ được coi là đạt yêu cầu khi không thấp hơn 40 IU đối với một liều đơn dùng cho người. Đối với các thử nghiệm sử dụng 3 độ pha loãng, giới hạn khoảng tin cậy 95 %, công hiệu phải nằm trong khoảng 50 % đến 200 % của công hiệu tiêu chuẩn.

An toàn chung

Phụ lục 15.11.

Chất bảo quản

Hàm lượng chất bảo quản thimerosal không ít hơn 85 % hoặc không nhiều hơn 115 % lượng ghi trên nhãn (Phụ lục 15.29).

Hàm lượng chất hấp phụ

Không quá 1,25 mg nhôm trong một liều đơn vắc xin cho người (Phụ lục 15.27).

pH

6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Cảm quan

Mỗi loạt vắc xin thành phẩm sau khi sản xuất phải được kiểm tra bằng cảm quan để đảm bảo các lọ hay ống vắc xin trước khi xuất xưởng đều phải đạt yêu cầu, không có dấu hiệu bất thường về cảm quan như: Vật lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút chặt và đảm bảo tính nguyên vẹn. Trong quá trình kiểm tra, nếu ống hay lọ nào thấy không đạt yêu cầu cần được loại bỏ.

Bảo quản, hạn dùng

Vắc xin được bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Khi bảo quản ở điều kiện quy định vắc xin có thể giữ được công hiệu 3 năm kể từ ngày chuẩn độ công hiệu.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN VIÊM GAN B TÁI TỔ HỢP (rDNA)

Vaccinum Hepatitis B (rDNA)

Định nghĩa

Vắc xin viêm gan B tái tổ hợp (rDNA) được sản xuất từ kháng nguyên bề mặt (HBsAg) - là một protein của virus viêm gan B. Kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B được sản xuất theo công nghệ tái tổ hợp ADN và thường được hấp phụ với nhôm hydroxyd hoặc nhôm phosphat hydrat.

Sản xuất

Vắc xin viêm gan B tái tổ hợp được điều chế bằng cách sử dụng HBsAg tổng hợp ở tế bào nấm men (*Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, *Hansenula polymorpha*), tế bào trứng chuột đất vàng (CHO - Chinese hamster ovary) hoặc các dòng tế bào thích hợp khác đã được biến nạp (transformation) một plasmid có chứa gen mã hoá HBsAg. HBsAg được thu từ tế bào bằng cách làm ly giải tế bào nấm men và được tinh chế nhờ các kỹ thuật sinh hóa lý.

Vắc xin tái tổ hợp có thể chứa sản phẩm của gen S (protein chủ yếu) hoặc phối hợp sản phẩm của gen S và tiền S2 (protein loại trung bình) hoặc phối hợp cả sản phẩm của gen S, tiền S2 và tiền S1 (protein loại lớn).

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm

Hàm lượng protein

Protein trong mẫu thử được định lượng theo phương pháp Lowry (Phụ lục 15.34).

Nhận dạng và hàm lượng HBsAg

Xác định hàm lượng HBsAg bằng các thử nghiệm hóa miễn dịch phù hợp, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), thử nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn men (ELISA), thăm miễn dịch hoặc khuếch tán miễn dịch đơn. Vắc xin mẫu thử được so sánh với vắc xin mẫu chuẩn quốc tế hoặc vắc xin mẫu chuẩn quốc gia.

Độ tinh khiết của kháng nguyên

Được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) hoặc các phương pháp khác phù hợp như SDS - PAGE (Phụ lục 15.39).

Tiêu chuẩn chấp thuận: Không nhỏ hơn 95 % so với hàm lượng protein toàn phần.

Lipid

Không lớn hơn 100 µg/100 µg protein (Phụ lục 15.40).

Cesi clorid (CsCl)

Không lớn hơn 5 µg/20 µg protein (Phụ lục 15.41).

Tween 20

Không lớn hơn 50 µg/100 µg protein (Phụ lục 15.42).

Polysaccharid

Không lớn hơn 10 µg/100 µg protein (Phụ lục 15.38).
Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Thimerosal

Không được lớn hơn 0,012 % (Phụ lục 15.29).

Vô khuẩn

Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm**Cảm quan**

Sau khi lắc, vắc xin viêm gan B có màu trắng, hơi đục.

pH

5,4 đến 7,4 (Phụ lục 15.33).

Protein toàn phần

Xác định bằng phương pháp Lowry. Hàm lượng protein toàn phần có trong vắc xin không được quá 40 µg/ml (Phụ lục 15.34).

Nhôm

Hàm lượng nhôm trong vắc xin tối đa không được quá 1,25 mg/liều đơn dùng cho người (Phụ lục 15.27).

Formaldehyd

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 15.25).

Thimerosal

Không được quá 0,012 % (Phụ lục 15.29).

Vô khuẩn

Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

An toàn chung

Vắc xin viêm gan B phải đảm bảo an toàn khi thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt trắng. Chuột phải khoẻ mạnh và tăng trọng bình thường sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Chất gây sốt

Vắc xin viêm gan B phải an toàn về mặt chất gây sốt khi tiêm cho thỏ. Tổng nhiệt độ chênh lệch 3 thỏ không được quá 1,3 °C (Phụ lục 15.12).

Công hiệu

Công hiệu vắc xin viêm gan tái tổ hợp được tiến hành song song giữa vắc xin mẫu thử với vắc xin mẫu chuẩn quốc gia; có thể được xác định bằng phương pháp thực nghiệm trên động vật thí nghiệm (công hiệu *in vivo*) để xác định hiệu giá kháng thể, hoặc phương pháp miễn dịch trên phòng thí nghiệm (công hiệu *in vitro*) để xác định hàm lượng kháng nguyên HBsAg có trong vắc xin.

Thử nghiệm công hiệu in vivo**Động vật thí nghiệm**

Chuột nhắt trắng giống BALB/C hoặc ICR, khỏe mạnh và từ cùng một đàn, khoảng 5 tuần đến 6 tuần tuổi, tốt nhất là chuột cùng một giới.

Xác định công hiệu tương quan

Vắc xin mẫu chuẩn quốc gia và vắc xin mẫu thử được pha loãng bậc 2 thành 5 độ pha. Dung dịch để pha vắc xin là nước muối sinh lý có chứa nhôm hydroxyd (hàm lượng nhôm hydroxyd không quá 500 µg/ml). Tiêm màng bụng 1 ml mỗi độ pha loãng vắc xin cho mỗi chuột. Mỗi độ pha loãng vắc xin tiêm ít nhất 15 chuột. Tất cả các chuột sau gây miễn dịch được nuôi từ 28 ngày đến 32 ngày trong điều kiện như nhau. Tiến hành gây mê và lấy máu tim chuột. Các mẫu máu được ly tâm 3000 vòng/phút ở nhiệt độ 4 °C đến 8 °C, tách huyết thanh. Các mẫu huyết thanh được bảo quản ở nhiệt độ -20 °C. Xác định hiệu giá kháng thể kháng HBsAg bằng thử nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn men (ELISA) trên bộ sinh phẩm chẩn đoán thương mại có sẵn. Kết quả được tính theo chương trình Probit Analysis (WHO).

Thử nghiệm có giá trị khi

ED₅₀ của vắc xin mẫu chuẩn quốc gia và vắc xin mẫu thử đều nằm trong khoảng giữa liều tiêm lớn nhất và nhỏ nhất.

Phân tích thống kê cho thấy đạt yêu cầu về tuyến tính và song song.

Giới hạn độ tin cậy của công hiệu tương quan nằm trong khoảng 33 % đến 300 %.

Tiêu chuẩn công hiệu trên thực nghiệm

Công hiệu tương quan (P = 95 %) không nhỏ hơn 1.

Thử nghiệm công hiệu in vitro

Vắc xin thử nghiệm được pha loãng song song với vắc xin mẫu chuẩn quốc gia bằng PBS 0,1M với các độ pha loãng bậc 2 phù hợp. Tiến hành thử nghiệm bằng kỹ thuật ELISA, trên bộ sinh phẩm chẩn đoán thương mại có sẵn. Dùng kháng thể đơn dòng kháng HBsAg để xác định lượng kháng nguyên HBsAg trong vắc xin mẫu thử, so sánh với vắc xin mẫu chuẩn.

Kết quả được tính theo chương trình Paralelline (WHO).

Tiêu chuẩn chấp thuận

Công hiệu tương quan (P = 95 %) không nhỏ hơn 0,65.

Đóng gói

Vắc xin viêm gan B được đóng trong lọ thủy tinh trung tính, mỗi lọ chứa 20 µg/1 ml; hoặc 10 µg/ 1 ml; hoặc 5 µg/1 ml tùy theo từng nhà sản xuất.

Bảo quản

Vắc xin viêm gan B phải được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tuyệt đối không được làm vắc xin đông băng.

Tính ổn định và hạn dùng

Nghiên cứu tính ổn định của vắc xin phải được tiến hành trên ít nhất 3 loạt liên tiếp (được sản xuất từ 3 loạt bán thành phẩm khác nhau) khi được bảo quản theo thời gian ở điều kiện như ghi trên nhãn của sản phẩm.

Trong điều kiện bảo quản như trên, vắc xin viêm gan B tái tổ hợp có hạn dùng là 36 tháng.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

Chỉ định, liều dùng

Đường dùng: Tiêm bắp vào vùng cơ delta (đối với trẻ sơ sinh, tiêm bắp đùi là tốt hơn).

Liều dùng, lịch tiêm: Theo hướng dẫn cụ thể của nhà sản xuất.

Tiêm nhắc lại sau 5 năm đối với tất cả các lứa tuổi.

VẮC XIN VIÊM GAN B ĐIỀU CHẾ TỪ HUYẾT TƯƠNG NGƯỜI***Vaccinum Hepatidis B ex plasma humanum*****Định nghĩa**

Vắc xin viêm gan B điều chế từ huyết tương người là một loại chế phẩm vô khuẩn của kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B (HBsAg) tách chiết từ huyết tương của người lành mang kháng nguyên HBsAg không có các triệu chứng lâm sàng và được làm tinh khiết, bất hoạt virus viêm gan B và các virus ngoại lai khác có thể có trong máu người.

Sản xuất

Huyết tương được thu thập từ các trung tâm truyền máu. Các trung tâm này phải chấp hành nghiêm ngặt và đầy đủ các yêu cầu của Tổ chức Y tế Thế giới đối với các xét nghiệm cho huyết tương dùng để sản xuất vắc xin viêm gan B điều chế từ huyết tương người.

Quy trình sản xuất bao gồm các bước loại trừ tối đa lipoprotein và các phức hợp miễn dịch bằng 3 lần siêu ly tâm phân vùng trong dung dịch kali bromid và 2 lần trong dung dịch saccharose. Quy trình này cho phép tách chiết HBsAg có độ tinh khiết đạt tới trên 95 %. Kháng nguyên duy trì được bản chất và bao gồm toàn bộ các phân đoạn cần thiết để có thể tạo ra được đáp ứng miễn dịch tối ưu, có nghĩa là bao gồm các protein đã được mã hoá bởi gen S và tiền S trong genom của virus viêm gan B. Các hạt HBsAg tinh khiết được bất hoạt bởi nhiệt độ, formaldehyd và hấp phụ với nhôm hydroxyd.

Hình dạng bên ngoài:

Sau khi lắc, vắc xin viêm gan B có màu trắng, hơi đục.

Kiểm định vắc xin thành phẩm**Nhận dạng**

Tiêm cho chuột lang hoặc chuột nhắt trắng thuần chủng vắc xin viêm gan B phải tạo được kháng thể HBs (anti - HBs).

pH

Từ 5,5 đến 7,5 (Phụ lục 15.33).

Hàm lượng protein

Hàm lượng protein được xác định bằng phương pháp Lowry. Hàm lượng protein không được quá 50 µg/ml (Phụ lục 15.34).

Chất hấp phụ

Hàm lượng nhôm tối đa không được quá 500 µg/ml (Phụ lục 15.27).

Formaldehyd

Vắc xin viêm gan B chứa một lượng formaldehyd tự do không quá 0,02 mg/ml (Phụ lục 15.25).

Thimerosal

Vắc xin viêm gan B chứa một hàm lượng thimerosal không quá 0,02 mg/ml (Phụ lục 15.29).

Chất gây sốt

Vắc xin viêm gan B phải an toàn về mặt chất gây sốt. Khi tiêm cho thỏ, tổng số nhiệt độ tăng cho 3 thỏ không được quá 1,3 °C (Phụ lục 15.12).

Vô khuẩn

Vắc xin viêm gan B phải vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

An toàn chung

Vắc xin viêm gan B phải đảm bảo an toàn khi thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt trắng. Chuột phải khoẻ mạnh và tăng trọng bình thường sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Công hiệu

Công hiệu của vắc xin viêm gan B được tiến hành kiểm tra song song với vắc xin chuẩn. Kết quả tính theo phương pháp thử nghiệm song song. Vắc xin kiểm tra và vắc xin chuẩn được pha loãng ở các nồng độ khác nhau trong nước muối sinh lý. Mỗi độ pha, tiêm 1 ml vào phúc mạc cho ít nhất 10 chuột nhắt thuần chủng BALB/5 tuần tuổi. Toàn bộ chuột được nuôi và theo dõi trong 5 tuần. Sau đó lấy máu trong điều kiện vô khuẩn và để riêng máu của từng chuột. Tách huyết thanh và tiến hành kiểm tra hiệu giá kháng thể anti-HBs có trong máu từng chuột bằng kỹ thuật ELISA. Kết quả được tính toán theo phương pháp Probit analysis. Công hiệu của vắc xin tính theo liều ED₅₀ của vắc xin thử nghiệm phải tương đương với ED₅₀ của vắc xin chuẩn.

Đóng gói và bảo quản

Vắc xin viêm gan B được đóng trong lọ thủy tinh trung tính chứa 20 µg/ml/lọ hoặc 5 µg /ml/lọ. Vắc xin viêm gan B phải được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng; tuyệt đối không được làm đông băng vắc xin.

Hạn dùng

Trong điều kiện bảo quản như trên đã nêu, vắc xin viêm gan B có hạn dùng là 36 tháng kể từ ngày sản xuất.

Nhãn

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN VIÊM NÃO NHẬT BẢN***Vaccinum Encephalitis japonicae*****Định nghĩa**

Vắc xin viêm não Nhật Bản là một chế phẩm vô khuẩn được điều chế từ chủng virus viêm não Nhật Bản (chủng Nakayama hoặc Beijing) sau khi đã được gây nhiễm vào não chuột nhắt trắng.

Quy trình sản xuất bao gồm các bước tinh chế bằng protamin sulfat, amoni sulfat, siêu ly tâm trong dung dịch saccharose. Virus viêm não Nhật Bản sau tinh chế phải có độ tinh khiết cao và duy trì được bản chất để có thể tạo ra đáp ứng miễn dịch tối ưu. Kháng nguyên tinh khiết được bất hoạt bởi formaldehyd và được bảo quản bằng thimerosal.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm**Vô khuẩn**

Bán thành phẩm viêm não Nhật Bản phải đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Hiệu giá virus

Hiệu giá virus viêm não Nhật Bản được xác định bằng kỹ thuật ELISA. Hiệu giá được sử dụng như một chỉ số theo dõi tính ổn định của quy trình sản xuất.

Kiểm định vắc xin thành phẩm**Cảm quan**

Mỗi lọ vắc xin viêm não Nhật Bản thành phẩm phải được kiểm tra bằng mắt thường để đảm bảo các lọ vắc xin không có dấu hiệu bất thường về cảm quan như: Vết lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút đã được đậy chặt và đảm bảo tính nguyên vẹn.

Vắc xin viêm não Nhật Bản ở dạng lỏng là dung dịch trong suốt, không màu.

Nhận dạng

Tiêm cho chuột lang hoặc chuột nhắt trắng, vắc xin viêm não Nhật Bản phải tạo được kháng thể trung hòa có khả năng trung hòa được virus đặc hiệu.

pH

Từ 6,8 đến 7,4 (Phụ lục 15.33).

Hàm lượng protein

Xác định bằng phương pháp Lowry. Hàm lượng protein không được quá 80 µg/ml (Phụ lục 15.34).

Chất bảo quản

Hàm lượng thimerosal không quá 0,12 mg/ml (Phụ lục 15.29).

Formaldehyd

Không quá 0,1 mg/ml (Phụ lục 15.25).

Chất gây sốt

Vắc xin viêm não Nhật Bản phải an toàn về chất gây sốt. Khi tiêm cho thỏ, tổng số nhiệt độ tăng cho 3 thỏ không được quá 1,3 °C (Phụ lục 15.12).

Vô khuẩn

Vắc xin viêm não Nhật Bản phải vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

An toàn chung

Vắc xin viêm não Nhật Bản phải đảm bảo an toàn khi tiêm thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt trắng. Chuột phải khỏe mạnh và tăng trọng bình thường sau thời gian theo dõi 7 ngày (Phụ lục 15.11).

An toàn đặc hiệu

Vắc xin viêm não Nhật Bản phải đảm bảo an toàn khi tiêm thử nghiệm trên chuột nhắt trắng. Chuột phải khỏe mạnh và tăng trọng bình thường sau thời gian theo dõi 14 ngày.

Tính an toàn đặc hiệu của vắc xin viêm não Nhật Bản được xác định bằng cách kiểm tra sự có mặt của virus còn sống sót sau quá trình bất hoạt.

Động vật: Sử dụng ít nhất 10 chuột nhắt trắng 4 tuần tuổi có trọng lượng khoảng 12 g đến 14 g. Lựa chọn những chuột khỏe mạnh, không có biểu hiện bệnh lý và tăng trọng bình thường trong thời gian cách ly ít nhất là 3 ngày trước khi tiến hành thử nghiệm. Chuột được chăm sóc và theo dõi trong điều kiện tiêu chuẩn.

Cách tiến hành: Mẫu vắc xin thử nghiệm không pha loãng đem tiêm vào não chuột với liều 0,03 ml cho mỗi chuột.

Theo dõi và đọc kết quả: Toàn bộ chuột thử nghiệm phải theo dõi và cân trọng lượng hàng ngày trước khi tiêm và sau khi tiêm. Thời gian theo dõi chuột là 14 ngày kể từ sau ngày tiêm. Trong suốt thời gian theo dõi, chuột thử nghiệm phải khỏe mạnh, tăng trọng và không được có các triệu chứng bất thường. Nếu trong trường hợp có một chuột thử nghiệm bị liệt hoặc chết

thì phải tiến hành thử nghiệm lại lần thứ hai với số vắc xin đem thử và số chuột thí nghiệm gấp 2. Nếu trong thử nghiệm lần thứ hai có một chuột bị liệt hoặc chết thì lô vắc xin thử nghiệm đó phải hủy bỏ vì không đạt yêu cầu về tính an toàn đặc hiệu.

Công hiệu

Tiến hành kiểm tra song song với vắc xin chuẩn.

Vắc xin kiểm tra và vắc xin chuẩn được pha loãng ở các độ pha 1/16, 1/32, 1/64 trong dung dịch PBS 0,75 M, pH 7,4 có chứa 0,02 % gelatin. Mỗi độ pha, tiêm 2 liều, mỗi liều 0,5 ml, đường phúc mạc, cách nhau 7 ngày cho 16 chuột nhắt trắng. Toàn bộ chuột được nuôi và theo dõi trong 2 tuần. Sau đó tiến hành lấy máu trong điều kiện vô khuẩn và để riêng máu của từng chuột, để ở 4 °C qua đêm. Tách huyết thanh và hợp huyết thanh của toàn bộ chuột (mỗi chuột 0,1 ml) của cùng một độ pha. Pha loãng huyết thanh 1/10 và bất hoạt bổ thể ở 56 °C trong 30 phút. Bảo quản huyết thanh chuột đã pha loãng và bất hoạt ở -20 °C. Tiến hành chuẩn độ hiệu giá kháng thể trung hòa trên tế bào BHK21.

Kết quả được tính toán theo công thức tính giảm 50 % đám hoại tử. Hiệu giá kháng thể trung hòa của vắc xin kiểm tra không được thấp hơn vắc xin chuẩn.

Đóng gói và bảo quản

Đóng ở trong lọ thủy tinh trung tính: 5,5 ml/1lọ và 1 ml/1lọ.

Bảo quản ở 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng; tuyệt đối không được làm đông băng.

Hạn dùng

Trong điều kiện bảo quản ở 2 °C đến 8 °C, vắc xin viêm não Nhật Bản có hạn dùng là 24 tháng kể từ ngày sản xuất.

Nhãn, hộp

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

Liều tiêm, đường tiêm, lịch tiêm

Tiêm dưới da, vị trí tiêm: vào vùng cơ delta.

Dưới 36 tháng tuổi tiêm 0,5 ml /1 liều.

Trên 36 tháng tuổi tiêm 1,0 ml /1 liều.

Lịch tiêm: 2 liều cách nhau 1 tuần đến 2 tuần.

Tiêm nhắc lại: Sau 1 năm và sau đó cứ 3 năm tiêm nhắc lại một lần.

Các chuyên luận
DƯỢC LIỆU

ACTISÔ (Lá)***Folium Cynarae scolymi***

Lá phơi hoặc sấy khô của cây Actisô (*Cynara scolymus* L.) họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Lá nhẵn nhéo, dài khoảng 1 m đến 1,2 m, rộng khoảng 0,5 m hay được chia nhỏ. Phiến lá xẻ thùy sâu hình lông chim, mép thùy khía răng cưa to, đỉnh răng cưa thường có gai rất nhỏ, mềm. Mặt trên lá màu nâu hoặc lục, mặt dưới màu xám trắng, lông nhiều và những rãnh dọc rất nhỏ, song song. Lá có nhiều lông trắng vón vào nhau. Vị hơi mặn và hơi đắng.

Bột

Mảnh biểu bì phiến lá gồm những tế bào hình nhiều cạnh, mang lỗ khí và lông che chở. Mạch biểu bì gân lá gồm tế bào hình chữ nhật, thành mỏng. Mạch xoắn, mạch mạng, mạch vòng và mạch vạch. Mạch mô mềm. Nhiều khối nhựa màu nâu, kích thước to nhỏ không nhất định.

Định tính

A. Cắt nhỏ 3 g dược liệu, cho vào bình cầu, thêm 50 ml *ethanol* 96 % (TT), đun sôi cách thủy với ống sinh hàn ngược trong 30 phút, lọc (dung dịch A).

Lấy 5 ml dung dịch A, bốc hơi trên cách thủy cho hết *ethanol*. Hòa lẫn còn lại trong 1 ml dung dịch *acid hydrochloric* 1 N (TT) và 4 ml *nước cất*, lọc. Thêm vào dịch lọc 1 ml *dung dịch natri nitrit* 10 % (TT), để lạnh ở 10 °C trong 20 phút. Thêm 4 ml *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT), xuất hiện màu hồng cánh sen bền vững.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel* G.

Dung môi khai triển: *Acid formic* - *butyl acetat* - *nước* (5 : 14 : 5).

Dung dịch thử: Dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cynarin 1 mg/ml trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm lên bản mỏng 15 µl dung dịch thử, 10 µl dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch natri nitrit* 10 % (TT) và sau 1 phút phun *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 1 vết màu vàng (flavonoid); 1 vết màu hồng (cynarin) có cùng trị số R_f với vết của cynarin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.8).

Tap chất

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 3 g dược liệu đã cắt nhỏ hoặc xay thành bột thô. Làm ẩm với *ethanol* 96 % (TT) trong 30 phút, cho vào bình Soxhlet chiết với *ethanol* 70 % (TT) trên cách thủy cho tới hết hoạt chất (thử bằng phản ứng định tính A: dịch thử không xuất hiện màu hồng cánh sen). Cắt thu hồi dung môi. Cẩn còn lại thêm 20 ml *nước cất*, lọc qua giấy lọc. Cho dịch lọc vào ống quay ly tâm và thêm 20 ml *dung dịch chỉ acetat* 10 % (TT), khuấy đều. Ly tâm với vận tốc 3000 vòng/phút, trong 15 phút. Gạn bỏ lớp nước. Thêm vào cặn 5 ml *dung dịch acid acetic* 10 % (TT) và 25 ml *dung dịch acid sulfuric* 0,05 M (TT). Chuyển hỗn hợp vào bình định mức 100 ml, lắc đều trong 30 phút. Thêm *nước cất* đến vạch. Lấy chính xác 20 ml hỗn hợp vào ống ly tâm và ly tâm như trên. Lấy chính xác 1 ml dung dịch trong ở phía trên, cho vào bình định mức 50 ml. Thêm *methanol* (TT) đến vạch. Đo độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 325 nm. Mẫu trắng là *methanol* (TT).

Hàm lượng hoạt chất trong dược liệu được tính theo công thức sau:

$$\frac{A \times 5000}{616 \times P}$$

Trong đó:

A là độ hấp thụ của mẫu đo;

616: Độ hấp thụ của dung dịch cynarin 1 % trong *methanol* (TT) ở bước sóng 325 nm;

P là khối lượng dược liệu thô (đã trừ độ ẩm).

Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,1 % hoạt chất tính theo cynarin.

Chế biến

Lá được thu hái vào năm thứ nhất của thời kỳ sinh trưởng hoặc cuối mùa hoa, đem phơi hoặc sấy khô ở 50 °C đến 60 °C. Lá cần được ổn định trước rồi mới bào chế thành dạng thuốc, có thể dùng hơi nước sôi có áp suất cao để xử lý nhanh lá. Sau đó phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thoáng mát, phòng ẩm mốc.

Tính vị, quy kinh

Khô, lương. Vào các kinh can, đờm.

Công năng, chủ trị

Lợi mật, chỉ thống. Chủ trị: Tiêu hóa kém, viêm gan, viêm túi mật, sỏi mật.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 10 g, dạng thuốc sắc.

CAO ĐẶC ACTISÔ***Extractum Cynarae spissum***

Cao đặc actisô được bào chế từ lá cây Actisô (*Cynara scolymus* L.) họ Cúc (Asteraceae) theo phương pháp thích hợp, để chế phẩm có hàm lượng hoạt chất ổn định.

Mô tả

Cao đặc actisô có thể chất mềm, đồng nhất. Màu nâu sẫm. Mùi đặc biệt. Vị hơi mặn chát và hơi đắng.

Định tính

A. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong khoảng 20 ml *ethanol* 96% (TT), lọc. Được dịch lọc A.

Lấy 1 ml dịch lọc A cho vào ống nghiệm, thêm 0,1 g bột *magnesi* (TT) và 2 ml *acid hydrochloric* (TT), để yên, xuất hiện màu hồng đến đỏ.

Lấy 1 ml dịch lọc A cho vào một ống nghiệm, thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 N* (TT) và 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 10%* (TT). Để lạnh ở 10 °C trong khoảng 20 phút. Thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10%* (TT), sẽ xuất hiện màu hồng bền vững.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G

Dung môi khai triển: Acid formic khan - acid acetic khan - nước - ethyl acetat (5 : 5 : 10 : 100)

Dung dịch thử: Dịch lọc A được cô tới cạn, hòa cạn trong 10 ml *ethanol* 60% (TT), lắc với 5 ml *ethyl acetat* (TT), tách lấy dịch chiết ethyl acetat làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan cynarin trong *methanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl dung dịch thử và 10 µl dung dịch đối chiếu, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch natri nitrit 10%* (TT) sau đó vài phút phun *dung dịch natri hydroxyd 10%* (TT).

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có một vết màu vàng (flavonoid) có giá trị R_f khoảng 0,30 và một vết màu hồng (giá trị R_f khoảng 0,55) tương đương với vết cynarin chuẩn trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Cẩn không tan trong nước

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 50 ml *nước cất*, lọc, thu cặn và sấy khô ở 100 - 105 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cặn không được quá 3%.

pH

Dung dịch cao đặc actisô 1% (kl/tt) trong nước phải có pH từ 5,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Mất khối lượng do làm khô

Không quá 20,0 %. Dùng 1,0 g chế phẩm sấy ở 70 °C đến khối lượng không đổi (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 35,0 %. Dùng 1,0 g chế phẩm (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Cân 0,800 g cao, cho vào ống ly tâm và thêm 10 ml *nước cất*, trộn thật đều. Thêm 20 ml *dung dịch chỉ acetat 10%* (TT), lắc đều và ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút, trong 15 phút. Gạn bỏ nước, trộn đều cặn với 5 ml *dung dịch acid acetic 10%* (TT) rồi thêm 25 ml *dung dịch acid sulfuric 1 N* (TT). Chuyển hết dung dịch vào bình định mức màu nâu 100 ml, lắc đều trong 60 phút, sau đó thêm *nước cất* đến vạch. Lấy 20 ml dung dịch này cho vào ống ly tâm và ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút, trong 15 phút. Lấy chính xác 2 ml dịch trong suốt ở phía trên, cho vào bình định mức 50 ml. Thêm *methanol* (TT) đến vạch. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 325 nm (Phụ lục 3.1), dùng *methanol* (TT) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng cynarin theo A (1%, 1 cm), lấy 616 là giá trị A (1%, 1 cm) của cynarin ở bước sóng 325 nm.

Hàm lượng hoạt chất trong cao đặc actisô tính theo cynarin không được nhỏ hơn 2,5%.

Bảo quản

Đóng trong bao bì, chống ẩm. Để nơi khô, mát.

BA KÍCH (RỄ)***Radix Morindae officinalis*****Dây ruột gà**

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Ba kích (*Morinda officinalis* How), họ Cà phê (Rubiaceae).

Mô tả

Rễ hình trụ tròn hay hơi dẹt, cong queo, dài 3 cm trở lên, đường kính 0,3 cm trở lên. Mặt ngoài màu nâu xám hoặc nâu nhạt, có nhiều vân dọc và ngang. Nhiều chỗ nứt ngang sâu tới lõi gỗ. Mặt cắt có phần thịt dày màu tím xám hoặc màu hồng nhạt, giữa là lõi gỗ nhỏ màu vàng nâu, vị hơi ngọt và hơi chát.

Vi phẫu

Mặt cắt được liệu hình tròn, từ ngoài vào trong có: Lớp vỏ gồm 2 đến 3 hàng tế bào hình chữ nhật xếp thành vòng tròn đồng tâm và dây xuyên tâm, trong lớp vỏ thường có các tế bào chứa bó tinh thể calci oxalat hình kim, sát lớp vỏ có các tế bào mô cứng xếp liền nhau tạo thành vòng. Mô mềm vỏ dày, cấu tạo bởi những tế bào thành mỏng, xếp lộn xộn, các tế bào ở phần ngoài bị ép bẹp. Phía trong mô mềm là libe, gồm các tế bào nhỏ tạo thành vòng liên tục. Rải rác trong mô mềm và libe có các bó tinh thể calci oxalat hình kim. Gỗ gồm các mạch gỗ lớn xếp thành bó, các bó kết hợp với nhau tạo thành lõi hình sao 5, 6 cạnh. Trong mô gỗ có những đám tế bào không hóa gỗ.

Bột

Bột có màu nâu nhạt, vị hơi chát, mùi thơm dịu. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bản gồm các tế bào hình chữ nhật, mảnh mô mềm cấu tạo bởi các tế bào hình nhiều cạnh thành mỏng, một số tế bào chứa bó tinh thể calci oxalat hình kim. Sợi gỗ. Có nhiều tế bào mô cứng thành dày hóa gỗ, các lỗ trao đổi rõ. Nhiều tinh thể calci oxalat hình kim, dài khoảng 0,1 mm và các đoạn gãy của chúng. Rải rác có các hạt tinh bột và nhiều mạch điểm.

Định tính

A. Lấy 0,10 g đến 0,20 g bột dược liệu, tiến hành vi thăng hoa (Phụ lục 12.2, mục Định tính g) sẽ được tinh thể màu vàng. Khi thêm dung dịch kiềm, sẽ ngả màu đỏ tím.

B. Đun sôi 0,10 g bột dược liệu với 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* và 9 ml *nước*, rồi lọc. Thêm *acid hydrocloric (TT)* cho đến phản ứng hơi acid và 10 ml *ether ethylic (TT)*, lắc. Lớp ether sẽ nhuộm màu vàng. Gạn riêng lớp ether, thêm 5 ml *dung dịch amoniac đậm đặc (TT)*, lắc. Lớp dung dịch amoniac sẽ nhuộm màu đỏ tím bền vững.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ether dầu hòa (30 °C đến 40 °C) - ethyl acetat - acid acetic băng (7,5 : 2,5 : 0,25).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 5 g bột dược liệu thêm 10 ml *nước*, lắc để nước thấm đều dược liệu, để yên 15 phút, nghiền bột dược liệu trong cối sứ thành bột ướt, thêm 40 ml *methanol (TT)*, cho vào bình cầu miệng mài, đun sôi hồi lưu trên cách thủy trong 30 phút, lọc, làm bay hơi dung môi đến cạn. Thêm 5 ml *nước* và 20 ml *ether dầu hòa (30 °C đến 60 °C) (TT)*, lắc khoảng 3 phút đến 5 phút, để lắng, gạn lấy phần dịch chiết ether dầu hòa, làm bay hơi hết dung môi. Hòa lẫn trong 2 ml *methanol (TT)* làm dung dịch thử. *Dung dịch đối chiếu:* Lấy 5 g dược liệu Ba kích (mẫu chuẩn) và tiến hành như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun *dung dịch kali hydroxyd 10 % trong ethanol (TT)*. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết (2 đến 3 vết) màu đỏ, cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm (Phụ lục 9.6)

Không quá 12,0 %.

Tỉ lệ vụn nát (Phụ lục 12.12)

Không quá 5,0 %.

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tỉ lệ dược liệu xơ, hóa gỗ, đường kính dưới 0,3 cm: Không được có.

Chế biến

Có thể đào lấy rễ quanh năm. Rễ được rửa sạch đất cát, loại bỏ rễ con, phơi khô tới khi không dính tay, đập nhẹ cho bẹp, phơi đến khô hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế

Ba kích nhục: Lấy Ba kích sạch đồ kỹ hoặc luộc qua, khi còn đang nóng rút bỏ lõi gỗ, cắt đoạn, phơi khô.

Diêm ba kích nhục: Lấy Ba kích sạch trộn với nước muối ăn cho đều, đồ kỹ, rút lõi gỗ, cắt đoạn phơi khô. Cứ 100 kg Ba kích dùng 2 kg muối và lượng nước vừa đủ hòa tan, lọc trong.

Chích ba kích: Lấy Cam thảo giả dập, sắc lấy nước, bỏ bã; Cho Ba kích sạch vào, đun đến khi mềm xốp có thể rút lõi gỗ, lấy ra rút lõi khi còn nóng, cắt đoạn, phơi khô. Cứ 100 kg Ba kích dùng 6 kg Cam thảo.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, tân, vị ôn. Vào kinh thận.

Công năng, chủ trị

Bổ thận dương, mạnh gân xương. Chủ trị: Liệt dương, di tinh, tử cung lạnh, phụ nữ khó mang thai, kinh nguyệt không đều, bụng dưới đau lạnh, phong thấp tê đau, gân xương mềm yếu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Âm hư hỏa vượng, táo bón không nên dùng.

BÁ TỬ NHÂN

Semen Platycladi orientalis

Là hạt trong "nón cái" già (còn gọi là "quả") được phơi hay sấy khô của cây Trắc bá [*Platycladus orientalis* (L.) Franco], họ Hoàng đàn (Cupressaceae).

Mô tả

Hạt hình trứng dài hoặc bầu dục hẹp, dài 4 mm đến 7 mm, đường kính 1,5 mm đến 3 mm. Mặt ngoài màu trắng vàng nhạt hoặc màu vàng nâu nhạt, có phủ một vỏ lụa dạng màng, đỉnh hơi nhọn, có một điểm nhỏ màu nâu thẫm, đáy tròn tù. Chất mềm, nhiều dầu. Mùi thơm nhẹ, vị nhạt.

Độ ẩm

Không quá 7,0 % (Phụ lục 12.13).

Chỉ số acid

Không quá 40,0 (Phụ lục 7.2).

Tán thành bột thô 50 g mẫu thử, cho vào bình Soxhlet, thêm 100 ml *hexan (TT)*, chiết hồi lưu trong 2 giờ, để nguội, lọc qua phễu lọc thủy tinh xốp số 3, cất thu hồi dung môi dưới áp lực giảm, lấy một phần dầu thu

được để xác định chỉ số acid theo Phụ lục 7.2. Phần còn lại xác định chỉ số carbonyl và chỉ số peroxyd.

Chỉ số carbonyl

Chỉ số carbonyl là số milimol của hợp chất có nhóm carbonyl có trong mẫu thử tính trên 1 kg mẫu thử.

Không quá 30,0. Xác định theo phương pháp sau:

Cân chính xác 0,02 g dầu cho vào bình định mức 25,0 ml, thêm *benzen* (TT) để hòa tan và pha loãng đến vạch với cùng dung môi. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch này vào bình nón 25 ml có nút mài, thêm 3 ml *dung dịch acid trichloroacetic 4,3 % trong benzen* (TT) và 5 ml *dung dịch 2,4-dinitrophenylhydrazin 0,05 % trong benzen* (TT), trộn đều, đun 30 phút trong cách thủy 60 °C, để nguội, thêm từ từ dọc theo thành bình 10 ml *dung dịch kali hydroxyd 4 % trong ethanol* (TT), đập nút bình nón, lắc kỹ trong 1 phút, để yên 10 phút. Tiến hành đo độ hấp thụ của dung dịch thu được (Phụ lục 4.1) tại bước sóng 453 nm, tính chỉ số carbonyl theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số carbonyl} = \frac{A}{854 \times G \times V_2/V_1} \times 1000$$

Trong đó:

A là độ hấp thụ của chất kiểm tra;

G là khối lượng của mẫu thử;

V_1 là tổng thể tích đã pha loãng của dung dịch chất thử;

V_2 là thể tích dung dịch chất thử dùng để pha dung dịch đo độ hấp thụ;

854 là giá trị trung bình của hệ số hấp thụ phân tử của aldehyd.

Chỉ số peroxyd

Chỉ số peroxyd là phần trăm iod tự do được tạo thành từ phản ứng của hợp chất peroxyd trong mẫu thử với kali iodid.

Không quá 0,26. Xác định theo phương pháp sau:

Lấy 3 g dầu vào một bình nón 250 ml, thêm 30 ml hỗn hợp *cloroform - acid acetic băng* (1 : 1), lắc cho tan hoàn toàn. Thêm chính xác 1 ml *dung dịch kali iodid bão hòa* (TT) mới pha, đập kín, lắc nhẹ trong 30 giây, để yên ở chỗ tối 3 phút, thêm 100 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,005 M* (CD) đến khi có màu vàng nhạt, thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột* (TT), tiếp tục chuẩn độ đến khi mất màu xanh. Song song tiến hành 1 mẫu trắng. Tính chỉ số peroxyd theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số peroxyd} = \frac{(A - B) \times 0,005 \times 0,1269}{G} \times 100$$

Trong đó:

A là thể tích *dung dịch natri thiosulfat 0,005 M* (CD) đã dùng với mẫu thử (ml);

B là thể tích *dung dịch natri thiosulfat 0,005 M* (CD) đã dùng với mẫu trắng (ml);

G là khối lượng chất kiểm tra (g);

0,1296 là lượng iod (g) tương đương với 1 ml *dung dịch natri thiosulfat 1 M*.

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu và mùa đông. Khi hạt chín, thu hái "quả", lấy hạt phơi khô.

Bào chế

Bá tử nhân: Loại bỏ tạp chất và vỏ "quả" còn sót lại.

Bá tử sương: Lấy Bá tử nhân sạch, giã nát, gói vào giấy thấm, sấy cho hơi khô, ép bỏ hết dầu, giã nhỏ.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh nóng và mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, bình. Vào các kinh tâm, thận, đại trường.

Công năng, chủ trị

Dưỡng tâm, an thần, chỉ hãn, nhuận tràng. Chủ trị: Hư phiền mất ngủ, hồi hộp đánh trống ngực, âm hư, ra mồ hôi trộm, táo bón.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 12 g, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

BẠC HÀ

Herba Menthae

Bộ phận trên mặt đất, thu hái vào thời kỳ vừa ra hoa, phơi trong râm hoặc sấy nhẹ cho đến khô của cây Bạc hà (*Mentha arvensis* L.), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Thân có thiết diện vuông, nhẹ, xốp, dài khoảng 20 cm đến 40 cm, đường kính khoảng 0,15 cm đến 0,30 cm. Thân chia đốt, khoảng cách giữa các mấu khoảng 3 cm đến 7 cm, màu nâu tím hoặc xanh xám, có nhiều lông hoặc gần như không có lông. Mặt cắt ngang có màu trắng, thân già đôi khi rỗng ở giữa. Lá mọc đối, cuống lá dài từ 0,5 cm đến 1,5 cm, phiến lá hình mũi mác, dài 3 cm đến 7 cm, rộng 1,5 cm đến 3 cm. Đầu lá thuôn nhọn hoặc hơi tù, mép có răng cưa nhọn. Hai mặt lá đều có lông nhiều hay ít. Lá khô dễ vụn nát. Cụm hoa mọc ở kẽ lá. Dược liệu có mùi thơm dễ chịu, vị cay nhẹ, sau mát.

Vi phẫu

Lá: Biểu bì trên và dưới mang lông che chở nhiều hay rất hiếm tùy theo chủng hay thứ, thường tập trung ở gân giữa. Lông che chở đa bào một dãy, thường có từ 2 đến 6 tế bào, bề mặt lấm tấm, có đoạn bị thắt hẹp lại. Lông tiết rất nhiều, có trên cả hai mặt lá, chứa đầy tinh dầu; có hai loại: lông tiết đầu đơn bào, hình bầu

dục, chân ngắn; và loại lông tiết đa bào, đầu to tròn có từ 4 đến 8 tế bào chứa tinh dầu, chân một tế bào, thường nằm trong vùng lõm của biểu bì trên và dưới. Hai đám mô dày nằm sát biểu bì trên và dưới ở phần gân chính. Bó libe gỗ hình cung, nằm giữa phần mô mềm của gân chính. Phía dưới bó libe gỗ có cung mô dày bao bọc cung libe. Phần phiến lá có mô mềm giàu ở sát biểu bì trên, gồm một hàng tế bào hình chữ nhật xếp sát nhau, bên dưới là mô mềm khuyết.

Thân: Vi phẫu thân có thiết diện vuông với bốn góc lồi nhiều hoặc ít. Biểu bì mang lông che chở và lông tiết như ở lá. Bên dưới biểu bì là mô dày, thường tập trung nhiều ở bốn góc lồi, mô mềm vỏ thường là mô mềm khuyết. Ở thân già thường có các đám sợi trụ bì tập trung ở nơi ứng với bốn góc lồi. Mạch gỗ cấp 2, bó gỗ cấp 1 thường tập trung tại bốn góc lồi làm cho cấu tạo thân ở bốn góc khác ở các cạnh. Mô mềm tủy có thể hóa mô cứng một phần ở vùng sát với gỗ cấp 1.

Bột

Bột có màu xanh lục nhạt, mùi thơm mát. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì có màng hơi ngoằn ngoèo mang lỗ khí kiểu trực bào. Một số chủng có nhiều lông che chở, một số có rất ít. Lông che chở gồm các tế bào dài gần bằng nhau, bề mặt lấm tấm, hay có đoạn thắt ở khoảng giữa. Lông tiết có nhiều, chân ngắn, đầu một hoặc nhiều tế bào (thường là hai, bốn, tám tế bào) chứa tinh dầu màu vàng nhạt, chiết quang, thường gặp ở dạng tròn, không thấy chân. Mảnh mô mềm của lá và thân, mảnh mạch vạch, mạng xoắn; đám sợi, tế bào mô cứng của thân già. Nếu là bột lấy từ cành có hoa thì ngoài các thành phần nêu trên còn có mảnh cánh hoa, đài hoa, chỉ nhị, hạt phấn hoa...

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat - acetone (8 : 1 : 1)*.

Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,2 ml tinh dầu bạc hà chưng cất được ở phần định lượng, hòa trong 1 ml *cloroform (TT)* dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch menthol 0,1 % trong *cloroform (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong khoảng 5 phút.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có hơn 5 vết màu xanh, tím hay xanh tím, trong đó có một vết to nhất và đậm nhất có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết menthol của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13), dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ.

Tro toàn phần

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát

Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).

Lấy chính xác khoảng 30 g dược liệu khô đã cắt nhỏ vào bình cầu dung tích 500 ml của bộ dụng cụ định lượng tinh dầu trong dược liệu (tinh dầu nhẹ hơn nước). Thêm 300 ml nước, tiến hành cất trong 3 giờ với tốc độ 2,5 ml đến 3,5 ml/min.

Dược liệu phải chứa ít nhất 1,0 % tinh dầu (tính theo dược liệu khô kiệt).

Chế biến

Thu hoạch khi cây vừa ra hoa, lúc trời khô ráo, cắt lấy dược liệu, loại bỏ tạp chất, phơi trong bóng râm hoặc sấy nhẹ ở 30 °C đến 40 °C đến khô. Trước khi dùng có thể vi sao (nhiệt độ thấp hơn 60 °C).

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, thân già, phun nước cho hơi ẩm, ủ hơi mềm, cắt thành đoạn ngắn, kịp thời phơi khô ở nhiệt độ thấp.

Bảo quản

Để nơi khô, mát; từng thời gian kiểm tra lại hàm lượng tinh dầu.

Tính vị, quy kinh

Tân, lương. Vào các kinh phế, can.

Công năng, chủ trị

Sơ phong thanh nhiệt, thấu chẩn, sơ can giải uất. Chủ trị: Cảm mạo phong nhiệt, đau đầu, đau mắt đỏ; thúc đầy sỏi đậu mọc; can uất ngực sườn căng tức.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 20 g, dạng thuốc sắc; khi sắc thuốc nên cho Bạc hà vào sau.

Kiêng kỵ

Người khí hư huyết tảo, mồ hôi nhiều, trẻ em dưới 1 tuổi không nên dùng.

BÁCH BỘ (RỄ)

Radix Stemonae tuberosae

Rễ củ đã phơi hoặc sấy khô của cây Bách bộ (*Stemona tuberosa* Lour.), họ Bách bộ (*Stemonaceae*).

Mô tả

Rễ củ hình trụ cong queo, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 1 cm đến 2 cm. Thường để nguyên cả rễ củ hoặc cắt đôi theo chiều ngang hay bổ đôi theo chiều dọc. Đầu trên đôi khi còn vết tích của cổ rễ, đầu dưới thuôn nhỏ. Mặt ngoài màu vàng nâu nhạt, có nhiều nếp nhăn dọc. Mặt cắt ngang thấy mô mềm vỏ khá dày, màu vàng nâu; lõi giữa màu trắng ngà.

Vi phẫu

Ngoài cùng là lớp bần có chỗ bị rách. Ở rễ củ non vẫn còn biểu bì gồm những tế bào xếp đều đặn, phía ngoài phủ lớp cutin. Lớp mô mềm vỏ rất dày, chiếm phần lớn vi phẫu gồm các tế bào gần tròn tương đối đều nhau, có thành mỏng. Các tế bào mô mềm xếp lộn xộn tạo ra những khoảng gian bào nhỏ. Nội bì cấu tạo bởi một lớp tế bào có thành dày hình chữ nhật, xếp đều đặn. Libe-gỗ cấu tạo cấp 1, phân hóa hướng tâm. Bó libe xếp xen kẽ bó gỗ và nằm sát nhau nên giữa chúng không tạo thành những tia ruột. Mô mềm tủy cấu tạo bởi những tế bào to nhỏ không đều, thành mỏng, xếp lộn xộn.

Bột

Mảnh bần màu vàng gồm tế bào hình nhiều cạnh, thành dày. Mạch mô mềm tế bào hình tròn, hình chữ nhật, thành mỏng, rải rác có tế bào chứa hạt tinh bột hình trái xoan. Hạt tinh bột có rốn và vân khá rõ, rốn lệch tâm, vân đồng tâm. Sợi dài có thành dày, khoang rộng. Mạch mạch điểm. Rải rác có tinh thể calci oxalat hình cầu gai, hình khối.

Định tính

A. Cân khoảng 2 g bột được liệu, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc* (TT), để yên 20 phút. Sau đó thêm 15 ml *cloroform* (TT), đun trong cách thủy 5 phút. Lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô. Hòa tan cân bằng 6 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N* (TT). Lọc, dùng dịch lọc làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *thuốc thử Mayer* (TT), xuất hiện tủa trắng.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *thuốc thử Bouchardat* (TT), xuất hiện tủa đỏ nâu.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *thuốc thử Dragendorff* (TT), xuất hiện tủa đỏ gạch.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *dung dịch bão hòa acid picric* (TT) sẽ xuất hiện tủa vàng.

B. Cân 1 g bột được liệu, thêm 5 ml *nước*, đun sôi, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *thuốc thử Fehling* (TT), đun sôi sẽ xuất hiện tủa đỏ gạch.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac đậm đặc (50 : 9 : 1).

Dung dịch thử: Cân 2 g bột được liệu đã sấy khô, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc* (TT), để yên 20 phút, rồi chiết lần 1 với 15 ml *methanol* (TT) trên

cách thủy trong 10 phút. Sau đó chiết lần 2 với 10 ml *methanol* (TT). Gộp dịch chiết, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc tới khô. Hòa tan cân bằng 2 ml *methanol* được dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan tuberostemonin LG trong *methanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml. Nếu không có tuberostemonin LG có thể dùng 2 g bột Bách bộ (mẫu chuẩn) và tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 30 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để bay hết hơi dung môi ở nhiệt độ phòng. Phun *thuốc thử Dragendorff* (TT). Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ít nhất 6 vết, trong đó phải có vết màu hồng có giá trị R_f khoảng 0,80 tương đương với vết tuberostemonin LG trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng bột Bách bộ để chuẩn bị dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 2 g bột được liệu cho vào bình Soxhlet rồi chiết bằng *methanol* (TT) hoặc *ethanol 96 %* (TT) cho đến khi hết alcaloid (chiết khoảng 2 giờ, xác định theo Phụ lục 12.3, dùng 1 giọt *thuốc thử Mayer* (TT)). Cắt thu hồi dung môi. Hòa tan cân bằng 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 %* (TT). Lọc lấy dịch acid. Tráng cặn và giấy lọc với khoảng 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 %* (TT) và gộp chung với dịch lọc trên. Kiểm hóa dịch lọc bằng *amoniac đậm đặc* (TT) tới pH 10, chiết với *ether* (TT) 5 lần, 2 lần đầu mỗi lần 15 ml và 3 lần sau mỗi lần 10 ml. Sau đó chiết tiếp bằng *cloroform* (TT) 4 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết ether và cloroform lại. Làm bay hơi trên cách thủy tới khô. Hòa tan cân với 10,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N* (CD), thêm 5 ml *nước* và 2 giọt *dung dịch đỏ methyl* (TT), chuẩn độ acid thừa bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CD). Hàm lượng alcaloid toàn phần (X) được tính theo công thức:

$$X\% = \frac{(10 - n) \times 3,75}{a}$$

Trong đó:

n là thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1N* (CD) đã dùng, tính bằng ml;

a là khối lượng bột được liệu đem định lượng đã trừ độ ẩm, tính bằng gam.

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,50 % alcaloid toàn phần tính theo tuberostemonin LG ($C_{22}H_{33}NO_4$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Đào lấy rễ củ lúc trời khô ráo, rửa sạch đất cát, cắt bỏ rễ ở hai đầu, đem đồ vừa chín hoặc nhúng nước sôi. Loại nhỏ để nguyên, loại to bỏ đôi rồi phơi nắng hoặc sấy ở 50 °C đến 60 °C.

Bào chế

Lấy Bách bộ khô, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô.

Bách bộ tẩm mật: Lấy lát Bách bộ khô, trộn đều với mật ong luyện và một ít nước sôi, ủ 30 phút cho ngấm đều, sao nhỏ lửa cho tới không dính tay, lấy ra để nguội. Cứ 100 kg Bách bộ thái lát dùng 12,5 kg mật ong.

Bảo quản

Để nơi khô, ráo, tránh ẩm, mốc.

Tính vị, quy kinh

Cam, khô, vị ôn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị

Ôn phế, nhuận phế, chỉ ho, sát trùng. Chủ trị: Ho mới hoặc ho lâu ngày, ho gà, ho lao, viêm phế quản mạn tính. Dùng ngoài trị chảy, rạn, ghẻ lở, giun kim, ngứa âm hộ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, cao, viên hoặc bột.

Dùng ngoài: Lượng thích hợp. Nấu lấy nước để rửa hoặc nấu cao để bôi, xoa.

Kiêng kỵ

Tỳ vị hư hàn không dùng.

BÁCH HỢP (Thân hành)

Bulbus Lilii

Vây đã chế biến, phơi khô lấy ở thân hành cây Bách hợp (*Lilium brownii* F.E.Brown var. *viridulum* Baker hoặc *Lilium pumilum* DC.), họ Hoa loa kèn (Liliaceae).

Mô tả

Vây hình bầu dục dài, dài 2 cm đến 5 cm, rộng 1 cm đến 2 cm, phần giữa dày 3 mm đến 4 mm, mặt ngoài màu trắng ngà, màu vàng nâu hoặc hơi tía, có các gân dọc màu trắng (các bó mạch), đỉnh nhọn, gốc tương đối phẳng, mép mỏng, không có răng, hơi cong vào phía trong. Chất cứng và dai, mặt gãy phẳng, trơn bóng như sừng. Không mùi, vị hơi đắng.

Vi phẫu

Mặt cắt ngang có hình bầu dục hẹp. Lớp ngoài cùng là biểu bì gồm các tế bào rất đều đặn, phía trong là tế

bào hình nhiều cạnh chứa đầy tinh bột, rải rác có những bó mạch.

Bột

Màu vàng nhạt, có các mảnh biểu bì, mảnh mô mềm với tế bào chứa tinh bột. Hạt tinh bột hình trứng, rón hình sao hay hình mắt chim có vân rõ. Có các mảnh mạch mạng.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Dung lớp trên của hỗn hợp dung môi gồm ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) - ethyl acetat - acid formic (15 : 5 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 10 ml methanol (TT), lắc hoặc siêu âm 20 phút, lọc. Cô dịch lọc đến còn 1 ml dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Bách hợp (mẫu chuẩn), tiến hành chiết tương tự như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun dung dịch acid phosphomolybdic 10 % trong ethanol (TT), sấy bản mỏng đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 18,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng nước làm dung môi.

Chế biến

Lúc trời khô ráo, đào lấy thân hành, rửa sạch đất cát, phơi cho hơi se, tách ra từng vẩy, phơi khô.

Bào chế

Bách hợp tẩm mật: Lấy Bách hợp sạch, thêm mật ong và một ít nước sôi, khuấy đều cho ngấm, cho vào chảo sạch, sao nhỏ lửa tới khi không dính tay thì lấy ra, để nguội. Cứ 100 kg Bách hợp thì dùng 5 kg mật ong đã canh.

Bảo quản

Để nơi thoáng, khô.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn. Vào các kinh phế, tâm.

Công năng, chủ trị

Dưỡng âm, nhuận phế, thanh tâm, an thần. Chủ trị: Âm hư, ho lâu ngày, trong đờm lẫn máu, hư phiền,

kinh hải, tim đập mạnh, mất ngủ, hay ngủ mê, tinh thần hoảng sợ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g. Dạng thuốc sắc hoặc dạng bột.

Kiêng kỵ

Trúng hàn (cảm lạnh), hàn thấp ú trệ, tỳ, thận dương suy không nên dùng.

BẠCH CẬP (Thân rễ)

Rhizoma Bletillae striatae

Thân rễ phơi hay sấy khô của cây Bạch cập [*Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f.], họ Lan (Orchidaceae).

Mô tả

Thân rễ hình cầu dẹt, không đều, có 2 đến 3 nhánh dạng móng, dài 1,5 cm đến 5 cm, dày 0,5 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài trắng ngà hoặc trắng xám, có các vòng đồng tâm và có các nốt màu nâu là sẹo của rễ con, các sẹo của thân nhô cao lên ở phần trên, phần dưới có vết nổi của củ khác. Chất cứng chắc và khó bẻ gãy, mặt cắt ngang màu hơi trắng, trong như sừng. Không mùi. Vị đắng, nhai dính, dẻo.

Bột

Màu trắng ngà hay vàng nhạt, hơi ánh nâu. Soi kính hiển vi thấy: Các mảnh tế bào biểu bì thành dày, hóa gỗ, không phẳng, có những ống lỗ rõ rệt. Tinh thể calci oxalat hình kim dài 18 μ m đến 88 μ m có trong các tế bào lớn, hình gần tròn, chứa chất nhầy hoặc nằm rải rác bên ngoài. Bó sợi đường kính 11 μ m đến 30 μ m, thành tế bào hóa gỗ có lỗ hình bầu dục hay hình chữ V. Các mạch thang, mạch vạch, mạch xoắn đường kính 10 μ m đến 32 μ m. Khối hạt tinh bột hồ hóa không màu.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*, dùng dung dịch carboxymethylcellulose natri 0,2 % đến 0,5 % để tráng bản mỏng.

Dung môi khai triển: Dùng lớp trên của hỗn hợp dung môi gồm *ether dầu hòa* (60 °C đến 90 °C) - *ethyl format* - *acid formic* (15 : 5 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 4 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 20 ml *methanol* (TT), lắc siêu âm 30 phút, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô, hòa tan căn trong 20 ml *nước*, thêm 2 ml *acid hydrocloric* (TT), đun hồi lưu trong 30 phút và làm nguội ngay lập tức. Tiến hành chiết 2 lần, mỗi lần với 40 ml *ether* (TT), gộp các dịch chiết ether, bốc hơi tới khô, hòa tan căn trong 1 ml *cloroform* (TT) dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Bạch cập (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l dung dịch thử và 10 μ l dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0% (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ và mùa thu, lấy thân rễ, rửa sạch đất cát, bỏ rễ con, luộc hoặc đồ lên đến khi mặt cắt ngang thân rễ không còn lõi trắng, phơi đến khô se, bỏ vỏ ngoài rồi phơi tiếp đến khô.

Bào chế

Lấy Bạch cập sạch, hấp cho mềm đều, thái phiến phơi khô.

Bảo quản

Đề nơi khô, thoáng.

Tính vị, quy kinh

Khô, cam, sáp, vi hàn. Vào kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị

Thu liễm chỉ huyết, sinh cơ tiêu sưng. Chủ trị: Lao phổi ho ra máu, nôn ra máu, chấn thương chảy máu, da nứt nẻ, nhọt độc viêm tấy.

Cách dùng

Ngày dùng từ 6 g đến 15 g, dạng thuốc sắc.

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc viên hoặc thuốc bột để uống.

Dùng bồi, đắp ngoài với lượng phù hợp.

Kiêng kỵ

Không kết hợp với các loại thuốc Ô đầu (Ô đầu, Phụ tử, Thiên hùng).

BẠCH CHỈ (Rễ)

Radix Angelicae dahuricae

Rễ phơi hay sấy khô của cây Bạch chỉ [*Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f.], họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Rễ hình chùy, thẳng hay cong, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính phần to có thể đến 3 cm, phần cuối thon

nhỏ dần. Mặt ngoài củ có màu vàng nâu nhạt, còn đầu vết của rễ con đã cắt bỏ, có nhiều vết nhăn dọc và nhiều lỗ vỏ lõm lên thành những vết sần ngang. Mặt cắt ngang có màu trắng hay trắng ngà, tầng sinh libe-gỗ rõ rệt. Thê chất cứng, vết bẻ lõm chớm, nhiều bột. Mùi thơm hắc, vị cay hơi đắng.

Vị phẫu

Cắt ngang qua rễ thấy: Lóp bản gồm nhiều hàng tế bào hình chữ nhật có vách dày. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng, hình nhiều cạnh, có những khuyết to, nhiều ống tiết to nằm rải rác trong mô mềm và cả trong vùng libe. Libe-gỗ cấp 2 bị tia ruột chia cắt thành từng mảng hình quạt. Tầng sinh libe-gỗ không liên tục. Mô mềm gỗ hóa gỗ rất ít.

Bột

Bột có màu trắng mịn, mùi thơm hắc, vị đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bản màu vàng nâu, vách dày. Mảnh mô mềm chứa nhiều hạt tinh bột, hạt tinh bột có hình trứng hay hình nhiều cạnh đứng riêng rẽ hay dính vào nhau. Mảnh mạch mạng, mạch vạch, mạch điểm. Khối màu vàng, vàng sậm.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ethanol* (TT), lắc đều, đun cách thủy 5 phút. Lọc, cô dịch lọc còn khoảng 10 ml (dung dịch A). Lấy một ống nghiệm cho vào 1 ml dung dịch A, thêm 1 ml *dung dịch natri carbonat* 10 % (TT) hay *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT) và 3 ml *nước cất*, đun cách thủy 3 phút, để thật nguội, cho từ từ từng giọt *thuốc thử Diazo* (TT) sẽ xuất hiện màu đỏ cam.

B. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 3 ml *nước*, lắc đều trong 3 phút, lọc. Nhỏ 2 giọt dịch lọc vào 1 tờ giấy lọc, để khô, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm thấy có huỳnh quang màu xanh da trời.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat (8 : 2).

Dung dịch thử: Lấy 4 ml dung dịch A cô còn khoảng 2 ml.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Bạch chỉ (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 4 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cùng có vết phát huỳnh quang màu xanh da trời và cùng giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Cho 0,5 g dược liệu vào ống nghiệm, thêm 3 ml *ether* (TT), lắc 5 phút, để yên 20 phút. Lấy 1 ml dịch chiết ether, thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch hydroxylamin hydroclorid* 7 % trong *methanol* (TT) và thêm 3 giọt *dung dịch kali hydroxyd* 20 % trong *methanol* (TT). Lắc kỹ, đun nhẹ trên cách thủy, để nguội, điều

chỉnh đến pH 3 đến 4 bằng *acid hydrocloric loãng* (TT), sau đó thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch sắt* (III) *clorid* 1 % trong *ethanol* (TT), xuất hiện màu đỏ tím.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ, thu. Khi trời khô ráo, đào lấy rễ củ (tránh làm sây sát và gãy, không lấy củ ở cây ra hoa kết quả). Rửa nhanh, cắt bỏ rễ con, phân riêng các rễ củ có kích thước như nhau. Phơi nắng hay sấy ở 40 °C đến 50 °C cho đến khô hẳn.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, phân loại to nhỏ, ngâm qua, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô trong râm hay sấy nhẹ đến khô. Khi dùng, thái phiến dài 3 cm đến 5 cm, dày 1 mm đến 3 mm. Vi sac.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân ôn. Vào các kinh vị, đại trường, phế.

Công năng, chủ trị

Giải biểu, khu phong, thăng thấp, hoạt huyết tống mủ ra, sinh cơ chỉ đau. Chủ trị: Cảm mạo phong hàn, nhức đầu vùng trán, đau xương lồng mào, ngạt mũi, chảy nước mũi do viêm xoang, đau răng; mụn nhọt sưng tấy, vết thương có mủ, ngứa ở các bộ phận trong người.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc tán bột.

Kiêng kỵ

Âm hư hỏa vượng, nhiệt thịnh không nên dùng.

BẠCH ĐẬU KHẤU (Quả)

Fructus Amomi

Quả gần chín đã phơi khô của cây Bạch đậu khấu (*Amomum krervanh* Pierre ex Gagnep. hoặc *Amomum compactum* Soland. ex Maton), họ Gừng (Zingiberaceae).

Mô tả

Quả hình cầu dẹt, có 3 múi, đường kính 1 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài vỏ màu trắng ngà, có một số đường

vân dọc, đôi khi còn sót cuống quả. Vỏ quả khô dễ tách. Mỗi quả có 20 hạt đến 30 hạt, gọi là khâu mề hoặc khâu nhân, tập hợp thành khối hình cầu gọi là khâu cầu. Khâu cầu chia làm 3 múi có thành mỏng màu trắng ngăn cách, mỗi múi có 7 hạt đến 10 hạt. Hình dạng hạt không đồng nhất, phần nhiều là hình khối nhiều mặt không đều, đường kính khoảng 3 mm, mặt ngoài màu nâu nhạt đến nâu thẫm, có vân nhỏ, chất cứng. Mặt cắt ngang màu trắng. Hạt chứa nhiều tinh dầu. Mùi thơm, vị cay.

Vì phẫu (Hạt)

Vỏ hạt gồm các tế bào hình chữ nhật, có thành hơi dày. Các tế bào chứa sắc tố màu hồng nâu, to nhỏ không đều. Tế bào chứa tinh dầu. Hạt tinh bột có đường kính 3 µm đến 6 µm. Tinh thể calci oxalat hình kim, hình khối lập phương.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ quả non, lép: Không quá 10,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 3,0 %.

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7), dùng 30 g bột thô dược liệu và 150 ml nước, cất trong 4 giờ. Dược liệu phải chứa ít nhất 4,0 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Hái quả khi có màu lục, bỏ cuống, phơi khô. Khi dùng bỏ vỏ quả lấy hạt, giã nát.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, trong bao bì kín, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào các kinh phế, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Hóa thấp, hành khí, tiêu bĩ, ôn vị. Chủ trị: Tiêu hóa kém, hàn thấp nôn mửa, ngực bụng đau trướng, giải độc rượu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc bột hoặc thuốc sắc (cho vào sau khi sắc các thuốc khác).

Kiểm kê

Trường vị thực nhiệt, táo bón không dùng.

BẠCH GIỚI TỬ

Semen Sinapis albae

Hạt cải trắng

Hạt của quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Cải trắng (*Sinapis alba* L.), họ Cải (Brassicaceae).

Mô tả

Hạt nhỏ hình cầu, đường kính 1,5 mm đến 3 mm, mặt ngoài màu trắng xám hay vàng nhạt, có vân hình mạng rất nhỏ, rón hạt hình chằm nhỏ rõ. Hạt khô chắc, khi ngâm nước nở to ra. Lớp vỏ cứng mỏng, bóng. Khi cắt hạt ra thấy có lá mầm gấp, màu trắng, có chất dầu, không màu, vị hăng cay.

Vì phẫu

Vỏ hạt có tế bào chứa chất nhầy, hạ bì có 2 lớp tế bào mô dày. Có một hàng tế bào đá xếp đều đặn, thành bên trong dày, thành bên ngoài mỏng. Tế bào mô mềm của lá mầm chứa giọt dầu và hạt aleuron.

Bột

Bột màu vàng. Có các mảnh mô mềm, tế bào vỏ hạt hình đa giác không đều, thành mỏng. Mảnh nội nhũ và lá mầm. Các giọt dầu.

Định tính

Lấy 1 g dược liệu tán nhỏ, thêm 10 ml nước, đun sôi, lọc (dung dịch A).

A. Lấy 2 ml dịch lọc A, thêm 5 giọt thuốc thử Millon, để vài phút sẽ có màu đỏ.

Điều chế thuốc thử Millon bằng một trong hai cách sau đây:

Cách 1: Hòa tan thủy ngân (I) nitrat trong 8,5 ml acid nitric 32 % (TT) và pha thêm gấp hai lần thể tích nước, rồi gạn lấy phần nước trong.

Cách 2: Hòa tan 10 g thủy ngân trong 15 ml acid nitric (TT), thêm 30 ml nước và gạn lấy phần nước trong.

B. Lấy 2 ml dịch lọc A, thêm 5 giọt dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT), sẽ có màu vàng nâu.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Tỷ lệ hạt non, lép: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch vào cuối mùa hạ, đầu mùa thu, hái quả chín, phơi cho nứt vỏ ngoài, lấy hạt bên trong phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Bạch giới tử sống: Loại tạp chất, khi dùng giã dập.

Bạch giới tử sao: Lấy bạch giới tử sạch, sao nhỏ lửa tới khi bột có màu vàng sẫm, mùi thơm cay bốc lên thì lấy ra để nguội, khi dùng giã dập nát.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, trong bao bì kín, tránh sâu, mốc.

Tính vị qui kinh

Tân, ôn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị

Lý khí trừ đàm, thông kinh lạc chỉ thống. Chủ trị: Ho suyễn, đau tức ngực do hàn đàm. Khớp xương tê đau do đàm thấp lưu trú, âm thư, thũng độc.

Cách dùng liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán.

Dùng ngoài với lượng thích hợp để đắp khớp có nước, thũng độc.

Kiêng kỵ

Phế hư, ho khan không dùng.

BẠCH HOA XÀ THIẾT THẢO***Herba Hedyotis diffusa***

Dược liệu là toàn cây phơi hay sấy khô của cây Bạch hoa xà thiết thảo [*Hedyotis diffusa* (Willd.)], họ Cà phê (Rubiaceae).

Mô tả

Loài cỏ nhỏ. Thân màu nâu nhạt, tròn ở gốc, thân non có bốn cạnh, mang rất nhiều cành. Lá hình mác thuôn, dài khoảng 1,5 cm đến 3,5 cm, rộng 1 mm đến 2 mm, nhọn ở đầu, màu xám, dai, gần như không có cuống, lá kèm khía răng cưa ở đỉnh. Hoa mọc đơn độc, hoặc từng đôi ở nách lá. Hoa nhỏ có 4 lá đài hình giáo nhọn, ống đài hình cầu. Tràng gồm 4 cánh hoa, 4 nhị dính ở họng ống tràng. Quả bế, bầu hạ, còn đài, hình cầu hơi dẹt ở 2 đầu, bên trong có chứa nhiều hạt nhỏ, có góc cạnh.

Vi phẫu

Thân: mặt cắt ngang gần như vuông, các góc hơi tù. Biểu bì gồm một hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn, có những tế bào u to thành gai ngắn, mặt phẳng silic. Mô mềm vỏ gồm 4 đến 5 hàng tế bào thành mỏng xếp lộn xộn; to nhỏ không đều có chứa tinh thể calci oxalat hình kim tụ lại hay rải rác. Vòng libe-gỗ cấp 2 uốn lượn theo hình dạng của mặt cắt, có các mạch gỗ to. Mô mềm ruột cấu tạo bởi các tế bào hình tròn thành mỏng gồm khoảng 3 đến 4 hàng tế bào sau đó là khuyết.

Lá: biểu bì trên gồm một lớp tế bào hình chữ nhật to, biểu bì dưới gồm một lớp tế bào nhỏ hơn, cả hai đều có các u lồi tâm silic. Mô mềm giậu gồm nhiều lớp tế bào xếp sát biểu bì trên. Tế bào mô mềm thành mỏng, có tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình kim. Bó libe-gỗ ở gân lá xếp thành hình vòng cung ở giữa lá.

Bột

Bột có màu nâu. Tế bào biểu bì không màu thành mỏng, calci oxalat hình kim nằm riêng lẻ hay tụ thành từng bó. Mảnh biểu bì có các u lồi tâm silic. Sợi có thành dày. Mảnh mạch xoắn, mạch điểm.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - ethyl acetat* (7 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml nước, đun sôi trong 10 phút. Lọc qua bông, thêm vào dịch lọc 5 ml *dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT)*, đun trong cách thủy sôi 30 phút. Để nguội, chiết với 20 ml *ether ethylic (TT)*. Gạn dịch chiết ether, để bay hơi ở nhiệt độ phòng đến cạn. Hòa cạn trong 1 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan acid oleanolic chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch acid oleanolic 1 %. Nếu không có acid oleanolic có thể dùng 5 g bột Bạch hoa xà thiết thảo (mẫu chuẩn) chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, để bay hơi hết dung môi ở nhiệt độ phòng. Phun lên bản mỏng hỗn hợp đồng lượng *dung dịch vanilin 2 % trong ethanol 96 % (TT)* và *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol 96 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C cho đến khi xuất hiện vết. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng vị trí và màu sắc với các vết có trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng khoảng 4 g dược liệu, *ethanol 96,0 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hái vào mùa hạ, lấy toàn cây, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô. Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt đoạn, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, khô, hàn. Quy vào các kinh: can, vị, đại trường, tiểu trường.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, lợi niệu thông lâm, tiêu ung tán kết. Chủ trị: Ho, hen xuyên do phế thực nhiệt, lâm lậu do bàng quang thấp nhiệt, viêm amidan, viêm họng cấp, sang chân, rắn độc cắn, mụn nhọt ung bướu, trường ung (viêm ruột thừa), dương hoàng (viêm gan cấp tính).

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 15 g đến 60 g dạng khô, hoặc từ 60 g đến 320 g dạng tươi, phối hợp trong các bài thuốc.
Dùng ngoài dạng tươi, lượng thích hợp giã nát đắp tại chỗ.

Kiêng kỵ

Không dùng cho phụ nữ có thai.

BẠCH TẬT LÊ (Quả)

Fructus Tribuli terrestris

Thích tật lê, Gai chống, Gai sấu

Quả chín phơi khô của cây Bạch tật lê (*Tribulus terrestris* L.), họ Tật lê (Zygophyllaceae).

Mô tả

Quả hình cầu, đường kính 12 mm đến 15 mm. Vỏ quả màu lục hơi vàng, có các gờ dọc và nhiều gai nhỏ, xếp đối xứng một đôi gai dài và một đôi gai ngắn; hai mặt bên thô ráp, có vân mạng lưới, màu trắng xám. Chất cứng, không mùi. Vị đắng, cay.

Bột

Màu lục vàng. Soi kính hiển vi thấy: Sợi vỏ quả hóa gỗ, ở lớp trên và lớp dưới xếp đan chéo nhau, sợi đơn lẻ rải rác; đôi khi có bó sợi nối tiếp các tế bào đá. Tế bào đá hình bầu dục dài hoặc gần tròn, xếp thành từng nhóm. Tế bào vỏ cứng hình nhiều cạnh hoặc gần vuông, đường kính khoảng 30 µm; thành tế bào có vân hình mạng lưới dày lên và hóa gỗ. Các tinh thể calci oxalat hình lăng trụ đường kính 8 µm đến 20 µm.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: Dung lớp dưới của hỗn hợp dung môi gồm *cloroform* - *methanol* - *nước* (13 : 7 : 2) được để yên ở dưới 10 °C.

Dung dịch thử: Lấy 3 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 50 ml *cloroform* (TT), siêu âm 30 phút, lọc. Bỏ dịch chiết *cloroform*, bay hơi bã đến khô. Thêm 1 ml *nước* vào bã trộn đều, thêm tiếp 50 ml *n-butanol* đã bão hòa *nước* (TT), lắc siêu âm 30 phút, gạn lấy dịch chiết *butanol*, rửa hai lần với cùng thể tích *amoniac* (TT), bỏ *nước* rửa. Bay hơi *n-butanol* đến khô, hòa tan cần trong 1 ml *methanol* (TT) dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 3 g bột Bạch tật lê (mẫu chuẩn), tiến hành chiết tương tự như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Phun dung dịch *p-dimethylaminobenzaldehyd* (Hòa tan 1 g *p-dimethylaminobenzaldehyd* (TT) trong 34 ml *acid hydrochloric* (TT) và 100 ml *methanol* (TT), trộn đều), sấy bản

mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, khi quả chín, cắt cả cây, phơi khô, thụ lấy quả, bỏ gai cứng.

Bào chế

Tật lê: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, trừ bỏ gai cứng còn sót, phơi khô.

Tật lê sao: Lấy Tật lê sạch, cho vào nồi, sao lửa nhỏ, cho đến khi màu hơi vàng là được, lấy ra phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Tân, khô, vị ôn, hơi độc. Vào kinh can, phế.

Công năng, chủ trị

Bình can giải uất, hoạt huyết, khu phong, sáng mắt, ngừng ngứa. Chủ trị: Nhức đầu, chóng mặt; ngực sườn đau trướng, tắc sữa, viêm (nhọt) vú; đau mắt đỏ kéo màng mắt; phong chân, ngứa.

Liều lượng, cách dùng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

BẠCH THUỘC (Rễ)

Radix Paeoniae lactiflorae

Rễ đã cạo bỏ lớp vỏ và phơi hay sấy khô của cây Thuộc dược (*Paeonia lactiflora* Pall.), họ Hoàng liên (*Ranunculaceae*).

Mô tả

Rễ hình trụ tròn, thẳng hoặc đôi khi hơi uốn cong, hai đầu phẳng; đều nhau hoặc một đầu to hơn, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 1 cm đến 2,0 cm. Mặt ngoài hơi trắng hoặc hồng nhạt, nhẵn hoặc đôi khi có nếp nhăn dọc và vết tích của rễ nhỏ. Đôi khi còn vỏ ngoài màu nâu thẫm. Chất rắn chắc, nặng, khó bẻ gãy. Mặt cắt phẳng màu trắng ngà hoặc hơi phớt hồng. Mô mềm vỏ hẹp. Không có mùi, vị hơi đắng, hơi chua.

Bột

Bột màu trắng. Soi kính hiển vi thấy: Các khối tinh bột bị hồ hóa. Tinh thể calci oxalat đường kính 11 µm đến 35 µm xếp thành hàng hay rải rác trong tế bào mô mềm; mạch mạng có đường kính 20 µm đến 65 µm. Sợi gỗ dài, đường kính 15 µm đến 40 µm, thành dày hơi hóa gỗ.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Chloroform - ethyl acetat - methanol - acid formic (40 : 5 : 10 : 0,2).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml ethanol 96 % (TT), lắc kỹ trong 5 phút, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô, hòa tan cần trong 2 ml ethanol 96 % (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan chất đối chiếu paeoniflorin trong ethanol 96 % (TT) được dung dịch có chứa 1 mg paeoniflorin trong 1 ml. Nếu không có paeoniflorin thì dùng 0,5 g bột Bạch thược (mẫu chuẩn), tiến hành chiết trong cùng điều kiện như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng đến khi xuất hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của paeoniflorin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Hoặc nếu dùng dược liệu chuẩn để chuẩn bị dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng

Không quá 5 phần triệu Pb, 0,3 phần triệu Cd, 2 phần triệu As, 0,2 phần triệu Hg và 20 phần triệu Cu (Phụ lục 9.4.11).

Chế biến

Đào lấy rễ, rửa sạch đất cát, cắt bỏ đầu đuôi và rễ con, cạo sạch vỏ ngoài sau đó luộc chín hoặc luộc chín rồi bỏ vỏ, phơi khô hoặc thái lát phơi khô.

Bào chế

Lấy rễ chưa thái lát, làm ẩm, ủ mềm, thái lát phơi khô.

Bảo quản

Đề nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, toan, vị hàn. Vào các kinh tỳ, can, phế.

Công năng, chủ trị

Bổ huyết, dưỡng âm, thư cân, bình can, chỉ thống. Chủ trị: Huyết hư, da xanh xao, đau sườn ngực, mồ hôi trộm, kinh nguyệt không đều, âm hư phát sốt, chóng mặt đau đầu, chân tay co rút, đau bụng do can khắc tỳ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, hoặc thuốc hoàn. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiểm kê

Đầy bụng không nên dùng. Không dùng cùng Lê lô.

BẠCH TRUẬT (Thân rễ)***Rhizoma Atractylodis macrocephalae***

Thân rễ phơi hay sấy khô của cây Bạch truật (*Atractylodes macrocephala* Koidz.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Thân rễ to (quen gọi là củ) có hình dạng thay đổi, hình chùy có nhiều mấu phình ra, phía trên thót nhỏ lại, hoặc từng khúc mập, nạc, dài 5 cm đến 10 cm, đường kính 2 cm đến 5 cm. Mặt ngoài màu nâu nhạt hoặc xám, có nhiều mấu, có vân hình hoa cúc, có nhiều nếp nhăn dọc. Chất cứng khó bẻ gãy, mặt cắt không phẳng, có màu vàng đến nâu nhạt, rải rác có khoang chứa tinh dầu màu nâu vàng, mùi đặc trưng.

Vĩ phẫu

Lớp vỏ gồm nhiều hàng tế bào xếp khá đều đặn. Lớp mô mềm gồm những tế bào hình nhiều cạnh, có thành mỏng, có khoang chứa tinh dầu và rải rác có các tinh thể calci oxalat hình kim. Phía trên libe có những đám tế bào mô cứng đa số hóa sợi. Tầng phát sinh libe-gỗ thành vòng rõ rệt. Libe-gỗ xếp thành tia tỏa tròn. Tia ruột hẹp.

Bột

Bột có màu vàng nâu, mùi thơm đặc trưng, vị đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bản gồm những tế bào hình nhiều cạnh, thành dày. Tế bào mô cứng hình nhiều cạnh, thành dày, có lỗ trao đổi. Mảnh mô mềm chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai và có các khoang chứa tinh dầu có màu nâu đến nâu vàng. Tinh thể calci oxalat hình kim có đầu nhọn nằm riêng rẽ hay thành đám. Mảnh mạch vạch, mạch mạng. Khối nhựa màu vàng, nâu, đỏ.

Định tính

A. Lắc 2 g bột dược liệu với 20 ml ether (TT) trong 10 phút và lọc. Bốc hơi 10 ml dịch lọc tới khô, thêm *dung dịch vanilin 1 % trong dung dịch acid sulfuric 5 %* (dung dịch pha khi dùng), xuất hiện màu hồng tím.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - ethyl acetat (50 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 5 ml *n-hexan* (TT) cho vào bình nút kín, lắc khoảng 30 phút, lọc lấy dịch lọc để làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: lấy 0,5 g bột Bạch truật (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, sấy nhẹ bản mỏng hoặc để khô ngoài không khí, rồi phun *dung dịch vanilin 1 % trong dung dịch acid sulfuric 5 %*. Sấy bản mỏng ở 60 °C trong khoảng 15 phút đến khi thấy các vết xuất hiện rõ, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và cùng màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, vết chính ở trên cùng có màu đỏ.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 3,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch thân rễ ở cây đã trồng 2 đến 3 năm, khi lá ở gốc cây đã khô vàng, đào lấy thân rễ, rửa sạch đất, bỏ rễ con, phơi hay sấy nhẹ cho khô.

Bào chế

Bạch truật đã loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, làm khô.

Thổ Bạch truật: Lấy Bạch truật phiến, dùng bột mịn phục long can (đất lòng bép) sao đến khi mặt ngoài có màu đất, rây bỏ đất, cứ 100 kg Bạch truật phiến dùng 20 kg bột mịn phục long can.

Bạch truật sao: Lấy cám mật chích, cho vào trong nồi nóng, khi khói bốc lên thì cho Bạch truật phiến vào sao cho đến khi có màu vàng sém, có mùi thơm cháy, lấy ra rây bỏ cám mật chích, cứ 100 kg Bạch truật phiến dùng 40 kg cám mật chích. Có thể chỉ sao Bạch truật với cám gạo, cách làm như trên.

Bảo quản

Đề nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, cam, ôn. Vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Kiên tỳ ích khí, táo thấp, lợi thủy, cố biểu liễm hãn, an thai. Chủ trị: Tiêu hóa kém, bụng trướng tiêu chảy, phù thũng, tự hãn, động thai.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc bột. Bạch truật sao cám, tẩm mật ong tăng tác dụng kiên tỳ, sao cháy có tác dụng chỉ huyết.

Kiểm kê

Âm hư nội nhiệt, tân dịch hư hao gây đại tiện táo, không dùng.

BÁN HẠ (Thân rễ)

Rhizoma Pinelliae

Bán hạ bắc

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Bán hạ [*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.], họ Ráy (Araceae).

Mô tả

Dược liệu có dạng hình cầu hay hình cầu dẹt, đường kính 1 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài trắng hay vàng nhạt. Đỉnh có chỗ lõm là vết sẹo của thân cây, xung quanh có nhiều vết sẹo rãnh là các chấm nhỏ. Phía đáy tù và tròn, hơi nhẵn. Chất cứng chắc, mặt cắt trắng và có nhiều bột. Mùi nhẹ, vị hăng, tê và kích ứng.

Bột

Bột màu trắng ngà. Soi kính hiển vi thấy khá nhiều hạt tinh bột, hình tròn, hình bán nguyệt, hay hình nhiều cạnh, đường kính 2 µm đến 20 µm, rốn hình khe, hình chữ V hoặc hình sao, vân không rõ. Hạt tinh bột đơn hay kép từ 2 đến 6 hạt. Tinh thể calci oxalat hình kim, dài 20 µm đến 144 µm, tập trung hoặc rải rác khắp nơi. Mạch xoắn, đường kính 10 µm đến 24 µm.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G* đã dùng dung dịch *natri carboxymethylcellulose* (0,2 % đến 0,5 %) để tráng bản mỏng.

Dung môi khai triển: *n-Butanol - acid acetic - nước* (8 : 3 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu trong 30 phút, lọc, bốc hơi dịch lọc đến khi còn khoảng 0,5 ml được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan *arginin, analin, valine* và *leucin* chuẩn trong *methanol 70 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml đối với mỗi chất chuẩn trên.

Nếu không có các chất chuẩn đối chiếu như trên, có thể dùng 1 g bột Bán hạ (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và 1 µl dung dịch đối chiếu {Nếu dùng 1 g bột Bán hạ (mẫu chuẩn) để chuẩn bị dung dịch đối chiếu thì chấm 5 µl dung dịch đối chiếu}. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *thuốc thử ninhydrin (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi rõ vết. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Đối với *Bán hạ chế* (Pháp bán hạ): Ngoài các phản ứng trên, tiến hành thêm phép thử sau đây:

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) - benzen - ethyl acetat - acid acetic băng (10 : 20 : 7 : 0,5)

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột Pháp bán hạ, thêm 2 ml acid hydrocloric (TT) và 20 ml cloroform (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 1 giờ, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa cân trong 5 ml ethanol (TT) được dung dịch thử

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan acid glycyrrhêtinic chuẩn trong ethanol (TT) để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và 2 µl dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, soi dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết có màu đỏ tối trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Đào lấy thân rễ vào mùa hạ và mùa thu, rửa sạch, gọt bỏ lớp vỏ bên ngoài và rễ con, phơi hay sấy khô. Thái miếng trước khi sử dụng

Bào chế

Bán hạ tẩm phèn chua (Thanh bán hạ): Lấy Bán hạ đã được làm sạch, phân loại to nhỏ, lấy loại có cùng kích thước, ngâm trong dung dịch phèn chua 8 % cho đến khi không còn lõi trắng và vị thuốc gây cảm giác tê nhẹ. Lấy ra, rửa sạch, cắt thành lát mỏng và làm khô, dùng 20 kg phèn chua cho 100 kg Bán hạ. Dược liệu sau khi chế là những miếng nhỏ hình elip, hình thoi hơi tròn hoặc hình chữ nhật, trên bề mặt có màu nâu hoặc nâu nhạt, có một số đốm nhỏ màu trắng và có những đường vạch ngắn, có những vân đỏ tím dưới lớp vỏ còn lại. Bề mặt nhẵn, chất cứng, dễ gãy. Màu nhạt, vị hơi mặn, se và tê.

Bán hạ tẩm gừng (Khương bán hạ): Lấy Bán hạ đã được làm sạch, phân loại to nhỏ, lấy loại có cùng kích thước, ngâm trong nước cho đến khi không còn lõi trắng. Gừng thái lát, sắc lấy nước đặc, thêm phèn và Bán hạ, đun sôi kỹ, lấy ra, để ngoài không khí đến khô được một nửa thì đem cắt thành những lát mỏng và phơi khô. 100 kg Bán hạ dùng 25 kg Gừng và 12,5 kg phèn. Dược liệu sau khi chế là những miếng nhỏ hình

chữ nhật hoặc hơi tròn. Bên ngoài màu nâu đến nâu đen. Bề mặt cứng, nhẵn và bóng láng, bên trong màu nâu vàng nhạt. Mùi thơm nhẹ, có vị tê nhẹ, có chất nhầy khi nhai.

Pháp bán hạ: Lấy Bán hạ đã được làm sạch, phân loại to nhỏ, lấy loại có cùng kích thước, ngâm nước cho đến khi không còn lõi trắng, bỏ nước. Thêm nước sắc Cam thảo (Cam thảo thêm nước thích hợp, sắc 2 lần) và nước vôi (lấy vôi sống, thêm nước thích hợp) vào Bán hạ, đun sôi, ngâm tẩm, mỗi ngày khuấy 2 lần và duy trì pH 12 đến khi nếm vị thuốc gây cảm giác hơi tê lưỡi, mặt cắt có màu vàng đều là được. Lấy ra rửa sạch, phơi âm can, thái lát, sấy khô. 100 kg Bán hạ dùng 15 kg Cam thảo, 10 kg vôi sống. Dược liệu sau khi chế có hình hơi tròn hoặc hình chữ nhật. Bên ngoài có màu vàng nhạt, vàng hoặc vàng nâu. Bề mặt nhẵn cứng, bên trong có màu vàng đến vàng nâu, vị hơi ngọt, hơi se.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thoáng gió, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn, có độc. Vào hai kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Giáng nghịch cầm nôn, tiêu đờm hóa thấp, tán kết tiêu 痞. Chủ trị: Ho có đờm, nôn mửa, chóng mặt đau đầu do đờm thấp, đờm hạch, đờm kết với khí gây mai hạch khí.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g (sau khi chế biến theo yêu cầu chữa bệnh), dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Dùng ngoài tán nhỏ, làm bột trộn với rượu đắp nơi đau.

Chế gừng: Dùng trong trường hợp bị nôn, bị ho.

Tẩm phèn chua: Dùng trong trường hợp có đờm.

Pháp bán hạ: Dùng trong trường hợp nhiều đờm.

Bán hạ sống: Dùng ngoài để đắp mụn nhọt sưng đau.

Kiểm kê

Âm huyết hư, tân dịch kém và người có thai không nên dùng. Không kết hợp với các thuốc loại Ô đầu.

BÌM BÌM BIẾC (Hạt)

Semen Pharbitidis

Khiên ngưu tử, Hắc sủu, Bạch sủu

Dược liệu là hạt phơi hay sấy khô của cây Bìm bìm biếc [*Pharbitis nil* (L.) Choisy], họ Bìm bìm (Convolvulaceae).

Mô tả

Hạt gần giống một phần năm khối cầu. Mặt lưng lõm hình cung, có một rãnh nông ở giữa. Mặt bụng hẹp, gần như một đường thẳng tạo thành do hai mặt bên. Rốn nằm ở cuối mặt bụng và lõm xuống. Hạt dài

4 mm đến 7 mm, rộng 3 mm đến 4,5 mm. Mặt ngoài hơi lồi lõm, màu nâu đen (hắc sừu) hoặc nâu nhạt (bạch sừu). Vỏ cứng, mặt cắt ngang màu lá mạ đến nâu nhạt. Ngâm hạt vào nước vỏ hạt sẽ nứt và tách ra.

Vì phẫu

Lớp tế bào biểu bì kéo dài theo hướng tiếp tuyến, rải rác có lông che chở. Tế bào hình giậu gồm 2 đến 3 lớp, kéo dài theo hướng xuyên tâm, đầu nhọn xen kẽ nhau, mép ngoài của lớp tế bào hình giậu có một dải hẹp có độ chiết quang lớn, sáng. Lớp tế bào vỏ trong rải rác có đám tế bào mạch. Nội nhũ mỏng, khó nhìn thấy. Lá mầm uốn lượn, tế bào tương đối đều đặn chứa nhiều nội chất và có túi tiết hình tròn hoặc hình bầu dục có tinh bột và dầu. Thân mầm.

Bột

Màu nâu nhạt. Mảnh vỏ ngoài có 2 đến 3 hàng tế bào biểu bì, tế bào hình giậu màu vàng 2 đến 3 hàng có khi thấy cả dải phát quang sáng. Tế bào hình giậu có khi tách riêng ra. Mảnh vỏ giữa hình dáng kích thước tế bào không cố định. Mảnh vỏ trong tế bào to, thành mỏng. Mảnh mô mềm lá mầm có hoặc không có túi tiết. Giọt dầu.

Định tính

Lấy cần nhựa thu được ở mục định lượng, sấy khô tán nhỏ, thêm 5 ml *dung dịch amoniac loãng (TT)*. Lắc kỹ 15 phút, dịch trên không được có màu vàng nhưng khi soi dưới ánh sáng tử ngoại thì xuất hiện huỳnh quang màu vàng sáng.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu, cho vào bình Soxhlet, chiết bằng *ethanol 90 % (TT)* trong 4 giờ. Chuyển dịch chiết *ethanol* vào cốc có mỏ, rồi bốc hơi đến gần khô. Chuyển cần nhựa này vào chén đã cân bì, tráng cốc 2 lần mỗi lần khoảng 5 ml *ethanol 90 % (TT)*, tập trung dịch tráng vào cốc và bốc hơi *ethanol*. Rửa cần nhựa bằng 10 ml *nước sôi*, khuấy kỹ 2 phút, để lắng rồi gạn phần nước vào phễu lọc, tiếp tục rửa như vậy nhiều lần cho đến khi nước rửa hết màu. Hòa tan cần nhựa trên phễu với một ít *ethanol 90 % (TT)* nóng và hứng dịch lọc vào chén cần nhựa. Bốc hơi *ethanol* cho đến gần khô. Sau đó sấy cần nhựa ở 100 °C trong 3 giờ.

Dược liệu không được chứa ít hơn 1,2 % nhựa tính theo dược liệu khô kiệt.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Cắt cây vào cuối mùa hạ khi quả đã chín nhưng chưa nứt, phơi khô, đập tách vỏ, sàng lấy hạt và loại bỏ tạp chất.

Bào chế

Khiên ngư tử sống: Loại bỏ tạp chất, đập vỡ trước khi dùng.

Khiên ngư tử sao: Sao khiên ngư tử sạch nhỏ lửa đến khi hạt hơi phồng, đập vỡ hạt trước khi dùng.

Bảo quản

Nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn, tiểu độc. Quy vào các kinh: phế, thận, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Trục thủy, sát trùng. Chủ trị: Phù thũng có bụng trương đầy, khó thở, bí đái, giun sán.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 4 g đến 8 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiểm kê

Không dùng cho phụ nữ có thai, người tỳ vị hư nhược. Kỵ Ba đậu.

BÌNH VÔI

Tuber Stephaniae

Phần gốc thân phình ra thành củ đã cạo bỏ vỏ đen ở ngoài hoặc thái thành miếng phơi hay sấy khô của cây Bình vôi [*Stephania glabra* (Roxb.) Miers] hoặc một số loài Bình vôi khác có chứa L-tetrahydropalmatin, họ Tiết dê (Menispermaceae).

Mô tả

Phần gốc thân phát triển thành củ to, có củ rất to, hình dáng thay đổi tùy theo nơi củ phát triển. Vỏ ngoài màu nâu đen, khi cạo vỏ ngoài có màu trắng xám. Hoặc đã thái thành miếng to, nhỏ không đều, có màu trắng xám, vị đắng.

Bột

Bột có màu vàng xám, vị đắng. Soi kính hiển vi thấy: Tế bào mô cứng thành dày, khoang rộng, mảnh mạch điểm, mảnh tế bào mô mềm thành mỏng, tinh thể calci oxalat hình khối chữ nhật dài và nhỏ, rải rác có những hạt tinh bột nhỏ hình tròn và hình trứng.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào bình nón có dung tích 200 ml, thấm ẩm dược liệu bằng *dung dịch amoniac 6 N (TT)*, để yên 30 phút. Cho vào bình nón 50 ml *cloroform (TT)*, lắc 5 phút đến 10 phút, rồi để yên 1 giờ, lọc. Lấy 30 ml dịch lọc cho vào bình gạn,

thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, lắc 2 phút đến 3 phút, gạn lấy phần dịch chiết acid cho vào 4 ống nghiệm:

Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa vàng nhạt.

Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa đỏ cam.

Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.

Ống 4: Thêm 2 giọt *dung dịch acid picric(TT)*, xuất hiện tủa vàng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluene - acetone - ethanol - amoniac (45 : 45 : 7 : 3).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu chiết như phần định tính ở trên, rồi cô cách thủy dịch chiết đến cạn khô, để nguội, hòa tan cần trong 1 ml *ethanol 90 % (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan L-tetrahydropalmitin chuẩn trong *ethanol 90 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử xuất hiện nhiều vết, trong đó phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của L-tetrahydropalmitin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: Dung dịch đệm pH 4,5 - acetonitril (70 : 30), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần. Lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,45 μ m, lắc siêu âm.

Cách pha dung dịch đệm pH 4,5: Hỗn hợp gồm dung dịch *kali dihydrophosphat 0,05 M - triethylamin (1000 : 2)*, điều chỉnh pH bằng *acid phosphoric (TT)*.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan L-tetrahydropalmitin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu chuyển vào một túi giấy lọc. Thẩm ẩm bằng 0,5 ml *dung dịch amoniac 6 N (TT)*, để yên trong 40 phút. Chuyển túi giấy lọc vào bình Soxhlet dung tích 100 ml, thêm 40 ml *cloroform (TT)*, chiết trong 4 giờ đến hết alcaloid. Lấy dịch chiết cô trên cách

thủy tới cạn, hòa tan cần cần trong *dung dịch acid sulfuric 5 N (TT)* (5 lần, mỗi lần 10 ml). Lọc qua giấy lọc vào bình gạn. Kiểm hóa dịch lọc bằng *amoniac đậm đặc (TT)* đến pH 10. Chiết bằng *cloroform (TT)* 4 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, bốc hơi trên cách thủy đến cạn khô. Dùng pha động hòa tan cần và chuyển vào bình định mức 500 ml, thêm pha động đến vạch, lắc đều. Lọc qua giấy lọc thường, bỏ 10 ml dịch lọc đầu. Phần dịch lọc còn lại tiếp tục lọc một lần nữa qua màng có kích thước lỗ lọc 0,45 μ m được dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m) (Lichrosorb RP 18 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 283 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ L-tetrahydropalmitin ($C_{21}H_{43}NO_4$) của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng L-tetrahydropalmitin ($C_{21}H_{43}NO_4$) trong dược liệu.

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,4 % (kl/kl) L-tetrahydropalmitin ($C_{21}H_{43}NO_4$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Có thể thu hái quanh năm, đào lấy củ, rửa sạch, cạo bỏ vỏ đen, thái mỏng, phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Khô, cam, lương. Vào hai kinh can, tỳ.

Công năng, chủ trị

An thần, tuyên phế. Chủ trị: Mất ngủ, sốt nóng, nhức đầu, đau dạ dày, ho nhiều đờm, hen suyễn khó thở.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, thuốc bột hoặc rượu thuốc.

BỘ BỒ

Herba Adenosmatis indiani

Thân, cành mang lá và hoa đã phơi khô của cây bộ bồ [*Adenosma indianum* (Lour.) Merr.] họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae).

Mô tả

Thân hình trụ tròn (đôi khi có thiết diện hơi vuông), màu nâu nhạt, có lông (dài và thưa hơn so với nhân trần). Lá mọc đối, nhẵn nhéo, hình trứng thuôn, đầu lá nhọn, gốc lá tròn. Mặt trên lá màu nâu thẫm, có nhiều

lông, mặt dưới lá màu lục ít lông hơn. Mép lá khía răng cưa nhọn. Gân lá hình lông chim. Lá dài khoảng 3,5 cm, rộng 1,5 cm đến 2 cm. Cụm hoa tận cùng dày đặc hình cầu hay hình trụ tròn. Hoa hình môi, môi trên nguyên, môi dưới chia làm 3 thùy tròn. Cánh hoa thường rụng, chỉ còn lá bắc và đài. Quả mọng, nhiều hạt (ít gặp). Dược liệu mùi thơm hắc, vị đắng, hơi cay.

Vi phẫu

Lá: Biểu bì trên và dưới gồm một hàng tế bào xếp đều đặn, mang lông che chở đa bào một dãy và lỗ khí, riêng biểu bì dưới mang lông tiết. Mô dày góc nằm sát biểu bì trên và dưới ở phần gân giữa. Mô mềm gồm tế bào gần tròn, thành mỏng. Bó libe-gỗ hình cung nằm giữa gân lá, gồm: Cung libe ở phía dưới, cung gỗ ở phía trên. Đôi khi có tế bào mô cứng hình thoi. Cấu tạo của phiến lá không đối xứng.

Thân: Biểu bì gồm một hàng tế bào xếp đều đặn, mang lông che chở đa bào, lông tiết. Mô mềm vỏ tế bào có thành mỏng. Nội bì rõ. Libe mỏng, trong đó rải rác có đám sợi mô cứng. Tầng phát sinh libe-gỗ rõ. Mạch gỗ xếp thành dãy xuyên tâm. Mô mềm ruột gồm tế bào to, thành mỏng.

Bột

Mảnh biểu bì lá gồm các tế bào thành mỏng, ngoằn ngoèo mang lông che chở và lỗ khí, riêng biểu bì dưới có mang lông tiết. Lông che chở có 3 đến 8 tế bào nguyên vẹn hoặc bị gãy, đầu lông nhọn, gốc phình to, tế bào giữa đôi khi thắt lại. Lông tiết hình cầu, đầu có 8 tế bào, chân ngắn có 1 tế bào. Mạch biểu bì thân gồm các tế bào hình chữ nhật thành mỏng, mang lông che chở, lông tiết. Mạch đài hoa, tế bào thành mỏng, mang lông che chở và lông tiết. Bó sợi dài, thành hơi dày. Mạch mạch xoắn. Tế bào mô cứng hình thoi (ít thấy).

Định tính

A. Xác định thành phần tinh dầu bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa* (30 °C đến 60 °C) - *toluen* - *ethyl acetat* (100 : 15 : 5)

Dung dịch thử: Cát kéo hơi nước 5 g dược liệu đã được cắt nhỏ với 50 ml nước trong bộ cất tinh dầu khoảng 2 giờ, rồi hứng lấy 10 ml dịch chiết. Để nguội, lắc với 2 ml *toluen* (TT), gạn lấy phần dịch chiết toluen.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cineol 0,2 % (tt/tt) trong *cloroform* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, phun thuốc thử gồm *dung dịch vanilin* 1 % trong *ethanol* (TT) và *acid sulfuric* (TT) (tỷ lệ 1 ml : 1 giọt, pha trước khi dùng), sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 phút. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải có 6 vết có màu xanh tím, xanh, hồng, vàng, tím, hồng nhạt, trong đó

phải có một vết có cùng màu sắc và có giá trị R_f với vết của cineol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Xác định flavonoid bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Toluen* - *ethyl acetat* - *acid formic* (80 : 20 : 10).

Dung dịch thử: Đun trong cách thủy 1 g dược liệu đã cắt nhỏ với 5 ml *ethyl acetat* (TT) trong 2 phút, gạn lấy dịch chiết, cô cách thủy còn 1 ml.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Bồ bồ (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký đến khoảng 10 cm, phun hỗn hợp *dung dịch acid boric* 10 % và *dung dịch acid oxalic* 10 % (tỷ lệ 2 : 1). Sấy bản mỏng ở 105 °C, trên sắc ký đồ các vết của dung dịch thử có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ba vết phát quang màu lục sáng cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Gốc, rễ: Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỉ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Định lượng tinh dầu

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 40 g dược liệu đã cắt nhỏ, thêm 200 ml nước, cất trong 3 giờ. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 0,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái khi cây đang ra hoa, phơi trong râm mát hay sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô. Tránh sấy nóng quá làm bay mất tinh dầu.

Bảo quản

Để nơi khô, mát.

Tính vị

Tân, vị khổ, vi ôn.

Công năng, chủ trị

Sơ phong giải biểu, thanh nhiệt lợi thấp. Chủ trị: Sốt, đau đầu, không ra mồ hôi, vàng da, viêm gan virus, ăn không tiêu, sốt, đau đầu, không ra mồ hôi.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 20 g, dạng thuốc sắc hoặc hãm.

Kiêng kỵ

Không phải thấp nhiệt không nên dùng.

BỘ CÔNG ANH***Herba Lactucae indicae***

Thân mang lá đã phơi hay sấy khô của cây Bộ công anh (*Lactuca indica* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Lá mỏng nhẵn nheo, nhiều hình dạng, thường có lá hình mũi mác, gần như không có cuống, mặt trên màu nâu sẫm, mặt dưới màu nâu nhạt, mép lá khía răng cưa, to nhỏ không đều. Có lá chỉ có răng thưa hay gần như nguyên. Gân giữa to và nổi nhiều. Vị hơi đắng. Đoạn thân dài 3 cm đến 5 cm, tròn, thẳng, lõi xốp, đường kính khoảng 0,2 cm, mặt ngoài màu nâu nhạt, lốm đốm, có mấu mang lá hoặc vết tích của cuống lá.

Vị phẫu

Lá: Mặt trên phẳng, mặt dưới lõm, hình chữ V.

Gân giữa của lá: Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào xếp đều đặn. Lớp mô dày tương đối mỏng xếp sát biểu bì. Mô mềm cấu tạo bởi những tế bào tròn hoặc nhiều cạnh, thành mỏng xếp sát nhau. Ở giữa gân lá có một khuyết to rộng. Các bó libe-gỗ kích thước không đều, xếp rời nhau, xen kẽ bó to và bó nhỏ theo hình chữ V, bó to nhất ở dưới. Mỗi bó libe-gỗ được bao phủ bởi 2 cung mô dày úp vào nhau. Bó libe-gỗ có libe ở phía dưới và phía ngoài, gỗ ở phía trên và phía trong.

Phiến lá: Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào đều đặn không có lông. Biểu bì dưới mang lỗ khí. Mô giậu gồm 2 hàng tế bào xếp đều đặn. Mô khuyết gồm những tế bào không đều nhau để hở những khoảng trống nhỏ. Thịt lá dị thể không đối xứng.

Thân: Biểu bì gồm một lớp tế bào nhỏ xếp đều đặn. Mô dày gồm 2 đến 4 lớp tế bào có kích thước nhỏ thành dày. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng xếp lộn xộn. Các bó libe-gỗ xếp thành vòng tròn trong đó libe tạo thành tầng đám, gỗ tạo thành vòng liên tục. Ở những phần tương ứng với libe, các mạch gỗ phát triển thành hàng tạo thành các bó libe-gỗ. Các bó libe-gỗ phát triển mạnh ở những chỗ thân lõm ra.

Bột

Lá: Mảnh biểu bì trên của lá gồm những tế bào thành mỏng, ít ngoằn ngoèo. Mảnh biểu bì dưới gồm những tế bào thành mỏng ngoằn ngoèo, trong có lỗ khí. Lỗ khí thường có 3 đến 4 tế bào phụ. Mảnh mô mềm gân giữa gồm những tế bào hình chữ nhật thành mỏng xếp đều đặn. Mảnh mô mềm phiến lá gồm những tế bào thành mỏng chứa diệp lục, có mạch xoắn xếp thành tầng dày.

Định tính

A. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, bột dược liệu phát quang màu xanh.

B. Lấy 10 g bột dược liệu cho vào túi giấy lọc, đặt vào bình Soxhlet, chiết bằng ether dầu hòa (30 °C đến

60 °C) (TT) đến khi dịch chiết không còn màu xanh. Lấy bã ra để bay hơi cho hết ether dầu hòa. Cho bã vào bình nón, thêm 50 ml ethanol 90 % (TT), đun cách thủy 30 phút, lọc nóng. Lấy khoảng 10 ml dịch chiết làm các phản ứng sau đây:

Nhỏ 1 giọt dịch chiết lên tờ giấy lọc, để khô, rồi hơ lên miệng lọ có chứa amoni hydroxyd đậm đặc (TT), màu vàng sẽ tăng lên.

Cho 2 ml dịch chiết vào ống nghiệm, thêm một ít bột magnesi (TT) và 3 đến 4 giọt acid hydrochloric (TT), đun nhẹ, dung dịch xuất hiện màu hồng nhạt.

Cho 2 ml dịch chiết vào ống nghiệm, thêm 3 giọt đến 4 giọt thuốc thử diazo (TT) mới pha, đun sôi 5 phút, dung dịch xuất hiện màu đỏ nâu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng

Không quá 20 phần triệu. Tiến hành như sau:

Dung dịch thử: Lấy 1,5 g bột dược liệu vào 1 chén bằng sứ hoặc thạch anh, có nắp đậy, đốt dần dần để than hóa hoàn toàn. Để nguội, thêm 1 ml hỗn hợp (pha trước khi dùng) gồm 1 thể tích acid nitric (TT) và 3 thể tích acid hydrochloric (TT), bốc hơi tới khô trên cách thủy. Làm ẩm cân bằng 3 giọt acid hydrochloric (TT), thêm 10 ml nước nóng và làm ẩm trong 2 phút. Sau đó thêm 1 giọt dung dịch phenolphthalein (TT), thêm từng giọt amoniac đậm đặc (TT) cho đến khi dung dịch xuất hiện màu đỏ nhạt, thêm 2 ml acid acetic loãng (TT), lọc nếu cần, rửa phễu và cân bằng 10 ml nước. Chuyển dịch lọc và dịch rửa vào ống thử Nessler, thêm nước vừa đủ 50 ml.

Dung dịch đối chiếu: Bốc hơi đến khô 1 ml hỗn hợp (pha trước khi dùng) gồm 1 thể tích acid nitric (TT) và 3 thể tích acid hydrochloric (TT). Sau đó tiến hành như chỉ dẫn với dung dịch thử, sau đó thêm 3,0 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu và thêm nước vừa đủ 50 ml.

Cách tiến hành: Thêm 1 giọt dung dịch natri sulfid (TT) vào dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, lắc mạnh, để yên 5 phút. So sánh màu của 2 ống nghiệm bằng cách nhìn dọc ống hoặc quan sát trên nền trắng. Dung dịch thử không được đậm màu hơn dung dịch đối chiếu.

Chế biến

Thu hái vào khoảng tháng 5 đến 7, lúc cây chưa ra hoa hoặc bắt đầu ra hoa, loại bỏ lá già, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế

Rửa sạch lá, cắt đoạn 3 cm đến 5 cm, phơi khô để dùng. Nấu cao: Rửa sạch, phơi khô, nấu thành cao đặc (1 ml cao tương đương 10 g dược liệu).

Bảo quản

Để nơi khô, thường xuyên phơi lại, tránh mốc, mục.

Tính vị, quy kinh

Cam, vị khô, hàn. Vào các kinh can, vị.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, tiêu viêm tán kết. Chủ trị: Mụn nhọt sang lở, tắc tia sữa, viêm tuyến vú, nhiễm trùng đường tiết niệu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 30 g dược liệu khô, dạng thuốc sắc, thường phối hợp với các vị thuốc khác. Đáp ngoài trị mụn nhọt, sưng vú, tắc tia sữa.

Kiêng kỵ

Các chứng âm hư hoặc tràng nhạc, ung nhọt đã vỡ cầm dùng.

BỔ CỐT CHỈ (Quả)

Fructus Psoraleae corylifoliae

Phá cổ chỉ, Đậu miêu

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Bồ cốt chỉ (*Psoralea corylifolia* L.), họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Quả hình thận, hơi dẹt, dài 3 mm đến 5 mm, rộng 2 mm đến 4 mm, dày khoảng 1,5 mm. Mặt ngoài màu đen, nâu đen hoặc nâu xám, có vết nhăn và vân hình mạng lưới nhỏ. Đỉnh tròn, tù, có núm nhỏ nhô lên; một bên mặt hơi lõm vào, có vết cuống quả ở một đầu. Vỏ quả mỏng, khó tách rời hạt. Hạt có hai lá mầm, cây mầm trắng hay hơi vàng, có chất dầu. Quả cứng chắc, mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.

Vì phẫu

Quả: Vỏ quả có thiết diện cong tròn đều ở mặt trong, mặt ngoài nhấp nhô, lồi lõm. Lớp ngoài cùng là vỏ quả ngoài mang nhiều lông che chở có vết lấm tấm trên bề mặt. Bên dưới biểu bì là nhiều lớp tế bào mô mềm hình chữ nhật nằm ngang, rải rác có các ống tiết chứa giọt tinh dầu màu vàng xanh. Trên một vài lát cắt có thể gặp bó libe gỗ nằm trong vỏ quả giữa.

Hạt: Vỏ hạt gồm một lớp tế bào hình giậu xếp hướng tâm tạo thành vòng liên tục, bên trong là lớp tế bào đặc biệt có dạng hình trụ đứng và loe rộng ở hai đầu, xếp khít nhau ở hai mặt tiếp tuyến, giữa có khoảng gian bào. Kế đến là tế bào mô mềm hình chữ nhật nằm ngang, xếp thành nhiều hoặc ít lớp làm cho vỏ hạt có chỗ dày chỗ mỏng không đều. Trong vùng mô mềm của vỏ hạt có thể gặp bó libe-gỗ bị cắt ngang hay cắt dọc. Hai lá mầm xếp khít nhau tạo thành tổng thể hình bầu dục, có thể tách rời ở giữa. Ở vùng tiếp giáp giữa hai lá mầm, tế bào mô mềm có dạng hình giậu xếp thành 3 đến 5 lớp, kế đến là tế bào mô mềm có dạng

hình đa giác. Trong vùng giữa của mỗi lá mầm có thể có bó libe-gỗ mới thành lập, phân hóa gỗ và libe chưa rõ ràng.

Bột

Bột có màu nâu đen, mùi thơm, vị hơi đắng. Nhiều lông che chở bề mặt lấm tấm; mảnh mô mềm; mảnh vỏ hạt gồm các tế bào hình chữ nhật xếp khít nhau như hàng rào; mảnh mạch vạch, mạch xoắn nhỏ và hiếm gặp; giọt dầu béo.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) - ethyl acetat - methanol (20 : 15 : 1)*.

Dung dịch thử: Ngâm 0,5 g bột dược liệu trong 10 ml *cloroform (TT)* khoảng 1 giờ, lọc. Bóc hơi dịch lọc trên cách thủy đến gần khô. Hòa tan cặn trong 1 ml *cloroform (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan hỗn hợp hai chất psoralen chuẩn và isopsoralen chuẩn trong *cloroform (TT)* để được dung dịch có chứa mỗi chất 0,5 mg/ml. Nếu không có hai chất đối chiếu trên thì có thể dùng 0,5 g bột Bồ cốt chỉ (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát các vết dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Quả lép không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, hái lấy cụm quả đã chín, phơi khô, tách lấy quả, loại bỏ cuống và tạp chất, phơi hoặc sấy khô lại.

Bào chế

Bồ cốt chỉ sống: Loại bỏ tạp chất.

Diêm Bồ cốt chỉ (chế muối): Lấy Bồ cốt chỉ sạch trộn đều với nước muối 20 % ủ cho thấm đều hết nước muối, cho vào chảo, sao nhỏ lửa đến khi khô phồng lên, lấy ra để nguội. Dùng 2 kg muối cho 100 kg Bồ cốt chỉ.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Tân, khổ, ôn. Vào kinh thận, tỷ và tâm bào.

Công năng, chủ trị

Bổ mệnh môn hỏa, chỉ tả. Chủ trị: Liệt dương, di tinh, đái dầm, niệu tần, thất lưng đầu gối đau có cảm giác lạnh, ngũ canh tả. Dùng ngoài trị bạch biến, hói trán.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài: Dạng cồn thuốc 20 % đến 30 %, bôi chỗ đau.

Kiêng kỵ

Âm hư hỏa động, tiểu tiện ra máu, đại tiện táo bón, viêm đường tiết niệu không nên dùng.

BÔI MẪU (Thân hành)***Bulbus Fritillariae*****Xuyên bối mẫu**

Thân hành đã phơi hay sấy khô của cây Xuyên bối mẫu (*Fritillaria cirrhosa* D. Don), Âm tử bối mẫu (*Fritillaria unibracteata* Hsiao et K.C.Hsia), Cam túc bối mẫu (*Fritillaria przewalskii* Maxim.) hoặc Thoa sa bối mẫu (*Fritillaria delavayi* Franch.), họ Loa kèn (Liliaceae).

Tùy theo đặc điểm khác nhau của các loại Bôi mẫu người ta chia ra 3 loại dược liệu: Tùng bối, Thanh bối, Lỗ bối tương ứng với 3 loài dược liệu ở trên.

Mô tả

Tùng bối: Thân hành hình nón hoặc hình cầu, cao 0,3 cm đến 0,8 cm, đường kính 0,3 cm đến 0,9 cm. Mặt ngoài màu trắng ngà, 2 vảy ngoài có kích thước rất khác nhau. Vảy ngoài lớn hơn bao lấy vảy trong, phần vảy không bị bao bọc có hình trăng lưỡi liềm, phần này có tên là “hoài trung bảo nguyệt” (ôm trăng trong tay). Đỉnh thân hành kín, chồi hình cầu hơi thon, có 1 đến 2 vảy nhỏ, đỉnh tù hoặc hơi nhọn, gốc bằng, hơi lõm, ở giữa có chấm tròn màu nâu xám, thỉnh thoảng thấy vết tích rễ. Chất cứng, giòn, vết bẻ trắng, có chất bột. Vị hơi đắng.

Thanh bối: Thân hành hình tròn dẹt, cao 0,4 cm đến 1,4 cm, đường kính 0,4 cm đến 1,6 cm. Có hai vảy ngoài đồng dạng bọc lấy nhau. Đỉnh mở ra có chồi và 2 đến 3 vảy nhỏ bên trong, có vết tích của thân hành trụ, mảnh mảnh.

Lỗ bối: Thân hành hình nón dài, cao 0,7 cm đến 2,5 cm, đường kính 0,5 cm đến 2,5 cm. Mặt ngoài màu trắng ngà, hoặc vàng nâu, hơi lõm dóm nâu, 2 vảy ngoài đồng dạng. Đỉnh mở ra và hơi thon, gốc hơi nhọn hoặc tương đối tù.

Bột

Bột màu trắng ngà, mùi đặc trưng, vị hơi đắng. Soi kính hiển vi thấy:

Tùng bối và thanh bối: Nhiều hạt tinh bột hình trứng, hình cầu dài hoặc bất định hình, một số hạt hơi phân nhánh, đường kính 5 µm đến 64 µm, rốn hạt hình khe ngắn hay dạng điểm, hình chữ V hay chữ U, có vân tăng trưởng mờ. Tế bào biểu bì hình chữ nhật, thành lượn sóng nhất là ở bề mặt, đôi khi thấy lỗ khí tròn hay tròn dẹt, tế bào không đều. Mạch xoắn, đường kính 5 µm đến 26 µm.

Lỗ bối: Hạt tinh bột hình trứng lớn, hình vỏ sò, hình thận hay hình bầu dục, đường kính tới 60 µm, rốn hạt hình chữ V, hình sao hay dạng điểm, thấy rõ vân tăng trưởng. Mạch xoắn và mạch hình mạng, đường kính tới 64 µm.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây là 3,15 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hè, thu, đào lấy thân hành, loại bỏ rễ con, vỏ thô, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bảo quản

Đề nơi khô, đựng trong thùng hoặc lọ kín, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khổ, cam, vi hàn. Vào các kinh phế, tâm.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, nhuận phế, hóa đờm, tán kết. Chủ trị: Ho ráo do phế nhiệt, ho khan, ho đờm có máu, ho lao (không có vi khuẩn); loa lịch (tràng nhạc), áp xe vú, bướu cổ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc dùng bột, hòa với nước thuốc thang đã sắc, uống mỗi lần từ 1 g đến 2 g.

Kiêng kỵ

Không dùng phối hợp với Phụ tử, Ô đầu.

CÀ ĐỘC DƯỢC (Hoa)***Flos Daturae metelis***

Hoa phơi hay sấy khô của cây Cà độc dược (*Datura metel* L.), họ Cà (Solanaceae).

Mô tả

Hoa khô thường nhàu nát, hình dài. Hoa chưa nở dài 3 cm đến 5 cm, hoa đã nở dài 7 cm đến 12 cm. Đài

hình ống, dài bằng 2/5 tràng hoa; màu lục xám hoặc màu vàng xám, đỉnh có 5 thùy với 5 gân ở đáy; bề mặt hơi có lông mịn; tràng hình loa kèn, màu vàng nhạt hoặc màu vàng nâu, đỉnh có 5 thùy, nhọn, ngắn, có 3 gân dọc rõ ở dưới đỉnh; giữa hai thùy có chỗ hơi lõm; nhị 5, chỉ nhị dính liền vào ống tràng, dài bằng 3/4 tràng; vòi nhụy hình gậy. Mẫu hoa sấy khô, chất mềm dẻo; mẫu hoa phơi khô, giòn, mùi nhẹ; vị hơi đắng.

Bột

Bột màu vàng nhạt, vị hơi đắng. Hạt phần gần hình cầu hoặc hình bầu dục dài, đường kính 39 μm đến 42 μm , có cấu tạo 3 lỗ rãnh, bề mặt có đường gân nhỏ phân nhánh, tạo thành hình mạng lưới ở hai cực. Lông che chở của đài có 1 đến 3 tế bào, thành tế bào sần sùi. Mỗi lông tiết có 1 đến 5 tế bào ở đầu và 1 đến 5 tế bào ở chân. Các lông che chở ở mép cánh hoa có 1 đến 10 tế bào, thành tế bào hơi sần sùi. Lông che chở ở gốc chỉ nhị dày, có 1 đến 5 tế bào, đường kính chân lông đạt tới 128 μm , đỉnh tròn tù. Trong các tế bào tràng và đài hoa có tinh thể calci oxalat dạng cát, lăng trụ và cụm calci oxalat.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Hệ dung môi khai triển: *Ethyl acetat - methanol - amoniac đậm đặc* (17 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 1 ml *amoniac đậm đặc* (TT), trộn kỹ, thêm 25 ml *cloroform* (TT) khuấy kỹ, để lắng qua đêm, lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cặn trong 1 ml *cloroform* (TT), được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan atropin sulfat chuẩn và scopolamin hydrobromid chuẩn trong methanol để được dung dịch có chứa mỗi chất 4 mg/ml. Nếu không có 2 chất chuẩn trên, dùng 1 g bột hoa Cà độc dược (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng mỗi dung dịch 10 μl . Triển khai sắc ký xong, lấy bản mỏng ra, phơi khô ngoài không khí, phun thuốc thử *Dragendorff* (TT). Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết atropin và scopolamin của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng hoa Cà độc dược để chiết dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 10 g bột mịn dược liệu, đã được sấy khô 4 giờ ở 60 °C; làm ẩm bằng hỗn hợp *ethanol - amoniac đậm đặc - ether* (5 : 4 : 10), để yên 12 giờ, cho vào bình Soxhlet chiết bằng *ether* (TT) trên cách thủy đến khi chiết hết alcaloid (Phụ lục 12.3, dùng thuốc thử *Dragendorff*). Bốc hơi dịch chiết trên cách thủy cho bay gần hết ether, thêm 25 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 N*, tiếp tục bốc hơi cho đến hết ether. Để yên dung dịch đến khi còn hơi ẩm, lọc qua bông, chuyển dịch lọc vào bình gạn. Mặt khác, rửa bã cặn dược liệu bằng 5 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 N* và 2 lần với nước, mỗi lần 5 ml. Gộp các nước rửa với dung dịch acid trong bình gạn, chiết với 10 ml, 5 ml, 5 ml *cloroform* (TT), đến khi cloroform không còn có màu. Gộp các dung dịch cloroform và chiết bằng 10 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N*, gạn bỏ lớp cloroform, gộp các dung dịch acid sulfuric lại, trung hòa bằng *amoniac đậm đặc* (TT) và thêm 2 ml *amoniac đậm đặc* (TT) nữa. Chiết ngay với 20 ml, 15 ml, 15 ml, 10 ml, 5 ml *cloroform* (TT), đến khi chiết được hết alcaloid. Lọc các dung dịch cloroform trên cùng một phễu lọc có *natri sulphat khan* (TT). Rửa tiếp phễu lọc hai lần, mỗi lần với 4 ml *cloroform* (TT). Gộp các dịch chiết cloroform và dịch rửa, bốc hơi dung môi trên cách thủy. Thêm 3 ml *ethanol trung tính* (TT) để hòa tan cặn, bốc hơi đến khô và tiếp tục đun nóng trong 15 phút. Đun nhẹ để hòa tan cặn trong 2 ml *cloroform* (TT), cho thêm chính xác 20 ml dung dịch chuẩn độ *dung dịch acid sulfuric 0,02 N* (CĐ), đun cách thủy cho bốc hơi hết cloroform; để nguội ở nhiệt độ phòng, thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch đỏ methyl* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N* (CĐ) đến khi xuất hiện màu vàng.

1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N* (CĐ) tương đương với 6,068 mg $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_4$.

Hàm lượng alcaloid trong dược liệu (sấy khô 4 giờ, ở 60 °C) không được dưới 0,30 %, tính theo scopolamin ($\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_4$).

Chế biến

Từ tháng 4 đến tháng 11, thu hái hoa lúc bắt đầu nở, phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn, có độc. Vào các kinh phế, can.

Công năng, chủ trị

Bình suyễn, chỉ khái, giải co cứng, chỉ thống. Chủ trị: Ho suyễn khô khè, thượng vị đau có cảm giác lạnh, phong thấp tê đau, trẻ em co giật mạn tính. Dùng ngoài để gây tê.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 0,3 g đến 0,6 g; dạng thuốc hoàn; có thể dùng dưới dạng thuốc hút (dược liệu thái nhỏ cuộn thành điều thuốc hút, chia liều để dùng, mỗi ngày không được dùng quá 1,5 g dược liệu).

CÀ ĐỘC DƯỢC (Lá)***Folium Daturae metelis***

Lá phơi hay sấy khô của cây Cà độc dược (*Datura metel* L.), họ Cà (Solanaceae).

Mô tả

Lá khô nhăn nheo, màu nâu, mùi hăng đặc biệt, dài 9 cm đến 16 cm, rộng 4 cm đến 9 cm. Cuống lá dài 4 cm đến 6 cm. Đầu lá nhọn, gốc lá lệch (hai bên gốc phiến lá không đều nhau). Mép lá thường lượn sóng, có khía răng cưa nông. Mặt trên phiến lá màu lục xám, mặt dưới màu lục nhạt. Gân chính màu xám nhạt.

Vi phẫu

Gân lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một lớp tế bào mang nhiều lông che chở có bề mặt lấm tấm, lông tiết có đầu đa bào và chân đơn bào. Mô dày nằm sát biểu bì trên và biểu bì dưới. Mô mềm cấu tạo bởi những tế bào có thành mỏng, hình tròn hay đa giác không đều, rải rác có những tế bào chứa tinh thể calci oxalat dạng cát. Bó libe-gỗ hình cung ở giữa gân lá, libe tạo thành vòng bao quanh gỗ.

Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một lớp tế bào mang lông che chở và lông tiết. Mô giậu gồm các tế bào hình chữ nhật, xếp vuông góc với biểu bì trên, phía dưới là mô khuyết, rải rác có các tinh thể calci oxalat hình cầu gai nằm giữa mô giậu và mô khuyết.

Bột

Bột màu lục xám, mùi hăng đặc biệt, vị đắng. Mảnh biểu bì mang lỗ khí, mang lông tiết hoặc lông che chở. Lông che chở đa bào cấu tạo bởi 3 đến 4 tế bào thành mỏng, bề mặt lấm tấm. Thỉnh thoảng có một số lông che chở đa bào có eo thắt. Lông tiết đầu đa bào, chân đơn bào. Mảnh mạch xoắn. Mảnh mô mềm hình giậu. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Định tính

Lấy khoảng 3 g bột dược liệu cho vào một bình nón khô có nút mài dung tích 100 ml. Thấm ẩm bằng vừa đủ amoniac đậm đặc (TT). Thêm 15 ml hỗn hợp ether - cloroform (3 : 1). Để yên từ 45 phút đến 1 giờ, thỉnh thoảng lắc đều. Lọc dịch chiết ether-cloroform vào một bát sứ nhỏ, lấy bã dược liệu chiết như trên 2 lần nữa, gộp các dịch chiết ether-cloroform vào một bát sứ nhỏ, bốc hơi trên nồi cách thủy tới khô. Hòa tan cần với 3 giọt đến 5 giọt acid nitric (TT) rồi bốc hơi trên nồi cách thủy đến khô, cần có màu vàng. Để nguội, nhỏ vào cần 5 giọt aceton (TT) và 1 đến 2 giọt

dung dịch kali hydroxyd 10 % trong ethanol 90 % (TT) vừa mới pha sẽ xuất hiện màu tím không bền.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 25 g bột mịn dược liệu, đã được sấy khô 4 giờ ở 60 °C; cho vào bình Soxhlet, làm ẩm bằng hỗn hợp ethanol - amoniac đậm đặc - ether (5 : 4 : 10), để yên 12 giờ, thêm 500 ml ether (TT), đun hồi lưu trên cách thủy đến khi chiết hết alcaloid. Bốc hơi dịch chiết trên cách thủy cho bay gần hết ether, thêm 25 ml dung dịch acid sulfuric 0,5 N (TT), tiếp tục bốc hơi cho đến hết ether. Để yên dung dịch đến khi còn hơi ẩm, lọc qua bông, chuyển dịch lọc vào bình gạn. Mặt khác, rửa cần bằng 5 ml dung dịch acid sulfuric 0,5 N (TT) và 2 lần với nước, mỗi lần 5 ml. Gộp các nước rửa với dung dịch acid sulfuric trong bình gạn, chiết với 10 ml, 5 ml, 5 ml cloroform (TT) đến khi cloroform không còn có màu. Trộn đều các dung dịch cloroform và chiết bằng 10 ml dung dịch acid sulfuric 0,1 N (TT), gạn bỏ lớp cloroform, gộp các dung dịch acid sulfuric lại, trung hòa bằng amoniac đậm đặc (TT) và thêm 2 ml amoniac đậm đặc (TT) nữa. Chiết ngay với 20 ml, 15 ml, 15 ml, 10, 5 ml cloroform (TT), đến khi chiết được hết alcaloid. Lọc các dung dịch cloroform trên cùng một phễu lọc có natri sulphat khan (TT). Rửa tiếp phễu lọc hai lần, mỗi lần với 4 ml cloroform (TT). Gộp các dịch chiết cloroform và dịch rửa, bốc hơi dung môi trên cách thủy đến cạn. Thêm 3 ml ethanol trung tính (TT) để hòa tan cần, bốc hơi đến khô và tiếp tục đun nóng trong 15 phút. Đun nhẹ để hòa tan cần trong 2 ml cloroform (TT), cho thêm chính xác 20 ml dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ), đun cách thủy cho bốc hơi hết cloroform; để nguội ở nhiệt độ phòng, thêm 2 giọt đến 3 giọt dung dịch đỏ methyl (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ) đến khi xuất hiện màu vàng. 1 ml dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ) tương đương với 6,068 mg $C_{17}H_{21}NO_4$.

Dược liệu phải chứa không được dưới 0,12 % alcaloid tính theo scopolamin ($C_{17}H_{21}NO_4$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Vào tháng 4 đến tháng 10, khi trời khô ráo, hái lá bánh tẻ, loại bỏ các lá bị sâu bệnh và héo vàng, đem phơi nắng hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn, có độc. Vào kinh tâm, phế.

Công năng, chủ trị

Bình xuyên, chỉ khái, chỉ thống. Chủ trị: Hen suyễn, đau loét dạ dày ruột, nôn say tàu xe, đau răng, phong thấp, động kinh ở trẻ em, gây tê mê cho phẫu thuật, cai nghiện ma túy.

Cách dùng, liều lượng

Liều tối đa cho người lớn dạng bột 0,2 g/lần, 0,6 g trong 24 giờ. Có thể dùng lá cuộn để hút không được vượt quá 1 g/ngày.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người hen suyễn do nhiễm trùng hô hấp, cao huyết áp, thiên đầu thống.

CÁ NGỰA***Hippocampus*****Hải mã**

Cá con cá đã phơi hay sấy khô của một số loài Cá ngựa (*Hippocampus* spp.), họ Cá chia vôi (Syngnathidae).

Mô tả

Cá ngựa có thân hình hơi dẹt, dài và cong. Toàn thân dài khoảng 15 cm đến 20 cm, có khi hơn; phần phình to ở giữa thân rộng từ 2 cm đến 4 cm; màu vàng nhạt hoặc nâu đen. Thân và đuôi chia thành các ô hình chữ nhật, các ô này được tạo bởi các đốt xương vòng song song; ở đỉnh các đốt thân có các gai nhọn, thân có 7 gờ dọc, đuôi cuộn lại ở cuối và chỉ có 4 gờ. Đầu hơi giống hình đầu ngựa, giữa đầu có các gai to nhô lên. Miệng dài như một cái vòi, không có răng, hai mắt lõm sâu. Thở nhẹ, chất xương, cứng rắn, hơi có mùi tanh, vị hơi mặn.

Cá ngựa loại to, đầu đuôi đầy đủ, không có sâu mọt là loại tốt.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g dược liệu đã nghiền nhỏ).

Chế biến

Hai mùa hạ, thu, bắt cá ngựa về rửa sạch, loại bỏ màng da, bỏ ruột, uốn cong đuôi rồi phơi khô, thường buộc lại từng đôi một (1 con đực, 1 con cái).

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, vụn nhỏ, khi dùng giã nát, tán bột. Thường vật bỏ gai trên đầu, tẩm rượu, hơ hoặc sao kỹ với cám, tán nhỏ để dùng hoặc ngâm rượu với thuốc khác để uống.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, trong lọ, hộp kín có chứa một ít long não hay hồ tiêu để phòng sâu mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn, ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Ôn thận tráng dương, tán kết tiêu sưng. Chủ trị: Liệt dương, di niệu, thận hư, trung hà, u cục ở trong bụng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc uống.

Kiêng kỵ

Phụ nữ mang thai kiêng dùng.

CẢI CÙ (Hạt)***Semen Raphani sativi*****Lai phục tử, La bắc tử**

Hạt lấy từ quả chín, phơi hay sấy khô của cây Cải củ (*Raphanus sativus* L.), họ Cải (Brassicaceae).

Mô tả

Hạt nhỏ hình trứng tròn hoặc hình bầu dục hơi dẹt, dài 2,5 mm đến 4 mm, rộng 2 mm đến 3 mm. Mặt ngoài màu nâu vàng, nâu đỏ hoặc nâu xám, ở một đầu có rốn hạt hình tròn, màu nâu sẫm; đầu kia có mấy rãnh dọc. Vỏ hạt mỏng và giòn, bên trong có hai lá mầm màu trắng vàng, có dầu. Không mùi, vị nhạt hơi đắng, cay.

Định tính

A. Lấy một lượng nhỏ bột dược liệu (khoảng 20 mg) cho vào ống nghiệm, thêm một hạt nhỏ *natri hydroxyd* (TT), đun ống nghiệm trên đèn cồn, để nguội. Hòa hỗn hợp trên trong 2 ml nước, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, acid hóa bằng dung dịch acid hydrochloric 5 % (TT), khí hydrosulfur sẽ bốc lên làm cho giấy tím chì acetat (TT) biến thành màu đen nâu, sáng bóng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Lóp trên của hỗn hợp dung môi gồm ethyl acetat - acid formic - nước (10 : 2 : 3).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 30 ml ether (TT), đun hồi lưu 1 giờ và loại bỏ dịch ether, bay hơi bã tới khô. Thêm 20 ml methanol (TT) vào bã, đun hồi lưu 1 giờ, lọc và bốc hơi dịch lọc tới cạn, hòa tan cạn trong 2 ml methanol (TT) dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Hạt cải củ (mẫu chuẩn) tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Phun hỗn hợp gồm dung dịch vanilin 1 % trong acid sulphuric (TT) - ethanol 96 % (TT) (10 : 90), sấy bản mỏng đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của

dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 8,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Tỷ lệ hạt non, lép không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ, khi quả chín, cắt lấy cây, phơi khô, đập lấy hạt, loại bỏ tạp chất, phơi khô.

Bào chế

Hạt cải củ: Lấy hạt cải củ, loại sạch tạp chất, rửa sạch phơi khô, khi dùng giã nát.

Hạt cải củ sao: Lấy hạt cải củ sạch, sao nhỏ lửa đến khi hơi phồng và có mùi thơm, lấy ra để nguội, khi dùng giã nát.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, tránh sâu, mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, cam, bình. Vào kinh phế, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Tiêu thực trừ trướng, giáng khí hóa đờm. Chủ trị: Ăn uống đình trệ, thượng vị đau trướng, đại tiện bí kết, tiêu chảy, kiết lý, đờm nghẽn, ho suyễn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4,5 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Cơ thể hư nhược, thuộc chân khí hư thì không được dùng.

CAM THẢO (RỄ)

Radix Glycyrrhizae

Rễ còn vỏ hoặc đã cạo lớp vỏ, được phơi hay sấy khô của ba loài Cam thảo *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., *Glycyrrhiza inflata* Bat. hoặc *Glycyrrhiza glabra* L., họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Đoạn rễ hình trụ, thẳng hay hơi cong queo, thường dài 20 cm đến 30 cm, đường kính 0,5 cm đến 2,5 cm. Cam thảo chưa cạo lớp vỏ bên ngoài có màu nâu đỏ

cùng những vết nhăn dọc. Cam thảo đã cạo lớp vỏ có màu vàng nhạt. Khó bẻ gãy, vết bẻ màu vàng nhạt có nhiều xơ dọc. Mặt cắt ngang có nhiều tia ruột từ trung tâm tỏa ra, trông giống như nan hoa bánh xe. Mùi đặc biệt, vị ngọt hơi khé cổ.

Vi phẫu

Lớp vỏ dày gồm các tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ có chứa nhiều hạt tinh bột. Tia ruột có 3 đến 5 hàng tế bào loe rộng thành hình phễu trong vùng libe. Libe hình nón chứa các đám sợi thành dày và tinh thể calci oxalat. Gỗ gồm mạch gỗ to, sợi gỗ và mô mềm gỗ ít hóa gỗ. Trong có tủy nhỏ.

Bột

Màu vàng nhạt đến màu vàng nâu. Soi kính hiển vi thấy các mảnh mô mềm với tế bào có thành mỏng chứa nhiều hạt tinh bột. Hạt tinh bột đứng riêng rẽ, hình trứng hay hình cầu có đường kính 2 μ m đến 20 μ m. Sợi gỗ màu vàng, có thành dày, thường kèm theo tế bào có tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Mảnh mạch điểm màu vàng, mảnh bản màu nâu đỏ.

Định tính

A. Nhỏ *dung dịch amoniac* (TT) lên bột dược liệu sẽ có màu vàng tươi, thêm *dung dịch acid sulfuric* 80 % (TT) sẽ mất màu vàng tươi.

B. Lấy 0,5 g bột Cam thảo, thêm 50 ml *ethanol* 70 % (TT), đun nóng trên cách thủy trong 15 phút. Lọc nóng qua bông, lấy dịch lọc để làm các phản ứng sau:

Lấy 10 ml dịch lọc vào một chén sứ, cô trên cách thủy đến khô. Thêm vào căn 1 ml *anhydrid acetic* (TT) và 1 ml *cloroform* (TT), khuấy kỹ, lọc lấy phần dung dịch trong, cho vào một ống nghiệm khô. Thêm từ từ theo thành ống nghiệm khoảng 1 ml *acid sulfuric* (TT). Giữa 2 lớp chất lỏng có vòng ngăn cách màu nâu đỏ, lớp dung dịch phía trên có màu vàng nâu sẫm.

Lấy 2 ml đến 3 ml dịch lọc cho vào một ống nghiệm, thêm một ít bột *magnesi kim loại* (TT) và 0,5 ml *acid hydrocloric* (TT), sẽ xuất hiện màu đỏ sẫm.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - n-hexan (7 : 1 : 2).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ether ethylic* (TT), đun hồi lưu trên cách thủy trong 1 giờ, gạn bỏ dịch ether. Thêm vào bã 1 ml *acid hydrocloric* (TT) và 20 ml *cloroform* (TT), đun hồi lưu trong 1 giờ, để nguội, lọc lấy dịch chiết. Bốc hơi dịch chiết đến cạn, thêm vào căn 1 ml *methanol* (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy acid glycyrrhetic chuẩn, hòa tan trong *methanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml. Nếu không có acid glycyrrhetic, dùng 0,5 g bột Cam thảo (mẫu chuẩn) chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong methanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % đối với rễ đã cạo lớp vỏ; không quá 10 % đối với rễ không cạo lớp vỏ (Phụ lục 7.6).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 2,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu vào một bình nón dung tích 250 ml. Thêm 100 ml *ethanol 20 % (TT)*, đun trên cách thủy sôi trong 30 phút. Để lắng, gạn lấy dịch chiết. Chiết tiếp như trên 2 lần nữa, mỗi lần với 50 ml *ethanol 20 % (TT)*. Tập trung các dịch chiết vào một bình nón dung tích 250 ml, thêm 30 ml *ethanol (TT)*, để yên qua đêm. Lọc, cô dịch lọc trên cách thủy sôi đến khi hết ethanol, để nguội. Thêm 50 ml nước cất, 1 ml *acid hydrocloric (TT)*, khuấy đều. Đặt hỗn hợp vào trong nước đá đang tan trong 30 phút, gạn bỏ lớp nước, thu kết tủa. Hòa kết tủa với 10 ml *ethanol (TT)*, lọc qua giấy, rửa giấy lọc với *ethanol (TT)* tới khi nước rửa hết màu vàng. Tập trung tất cả dịch ethanol vào một cốc đã cân bì, bốc hơi trên cách thủy đến gần, sấy gần trong 3 giờ ở 105 °C. Lấy ra, để nguội trong bình hút ẩm. Cân và tính kết quả. Hàm lượng căn chứa acid glycyrrhizic không được dưới 6 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Sau khi đào lấy rễ, xếp thành đống để cho hơi lên men làm cho rễ có màu vàng sẫm hơn, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Lấy rễ Cam thảo, phun nước cho mềm, thái phiến, phơi hoặc sấy khô.

Chích Cam thảo: Lấy Cam thảo đã thái phiến, đem tẩm mật (cứ 1 kg Cam thảo, dùng 200 g mật, thêm 200 g nước đun sôi), rồi sao vàng thơm.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh sâu mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, bình. Vào các kinh tâm, phế, tỳ, vị và thông 12 kinh.

Công năng, chủ trị

Kiện tỳ ích khí, nhuận phế chỉ ho, giải độc, chỉ thống, điều hòa tác dụng các thuốc.

Chích Cam thảo: Bổ tỳ, ích khí, phục mạch. Chủ trị: Tỳ vị hư nhược, mệt mỏi yếu sức, hóa đờm chỉ ho, đánh trống ngực, mạch kết đại (mạch dưng), loạn nhịp tim.

Sinh Cam thảo: Giải độc tả hỏa. Chủ trị: Đau họng, mụn nhọt, thai độc.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc bột.

Kiêng kỵ

Không dùng chung với các vị Đại kích, Nguyên hoa, Hải tảo, Cam toại.

CAM THẢO NAM

Herba et Radix Scopariae

Cam thảo đất, Dã cam thảo, Thổ cam thảo

Toàn cây kể cả rễ dạng tươi hay đã phơi hoặc sấy khô của cây Cam thảo nam (*Scoparia dulcis* L.) họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae).

Mô tả

Phân trên mặt đất cao khoảng 0,4 m đến 0,7 m, mọc thẳng đứng, thân già hóa gỗ ở gốc, phần thân non có nhiều khía dọc. Lá mọc đối hoặc mọc vòng ba, dài 3 cm đến 5 cm, rộng 1,5 cm đến 3,0 cm, phiến nguyên, hẹp dần ở gốc, mép có răng cưa thưa ở nửa cuối, gân lá hình lông chim. Hoa nhỏ, cánh hoa màu trắng, mọc riêng rẽ hay thành từng đôi ở kẽ lá. Cuống quả dài 0,8 cm đến 1,5 cm. Quả nang nhỏ đựng trong đài tồn tại, màu nâu đen. Đài đồng trường và quả bên trong có dạng gần như tròn với núm nhụy thò ra ở đỉnh quả, dài 1 mm đến 2 mm. Quả luôn tồn tại ở kẽ lá làm thành điểm đặc sắc của cây. Rễ chính nhỏ, màu nâu đỏ nhạt, với nhiều rễ phụ. Toàn cây có mùi thơm nhẹ, vị đắng sau hơi ngọt.

Vi phẫu

Vi phẫu lá:

Phân gân giữa: Ngoài cùng là biểu bì có cutin răng cưa, kế đến là lớp mô dày, mô mềm gồm các tế bào thành mỏng. Bó libe gỗ chính có hình cung với libe ở dưới và gỗ gồm một số mạch xếp thành chuỗi ở phía trên.

Phân phiến lá: Phía dưới biểu bì trên là mô mềm giậu; kế đến là mô mềm khuyết và biểu bì dưới. Lông tiết gồm hai loại: chân đơn bào, đầu 4 đến 8 có khi 10 đến 16 tế bào thường nằm trong phần lõm của phiến lá; loại chân đa bào gồm 2 đến 5 tế bào, đầu đơn bào thường có ở gân lá.

Thân: Thiết diện đa giác hoặc hơi tròn có 4 đến 6 u lõi. Biểu bì có cutin răng cưa và mang nhiều lông tiết

hai loại như ở lá. Dưới biểu bì là mô dày tròn; ở chỗ ứng với u lồi, dưới biểu bì còn có thể có đám mô cứng rồi mới đến mô dày. Kế đến là mô mềm vỏ có những khuyết rải rác. Libe cấp 2 gồm các tế bào hình chữ nhật nằm theo hướng tiếp tuyến, thành khá dày, phía ngoài libe có nhiều đám sợi ở vùng trụ bì. Gỗ cấp 2 thành vòng liên tục, bên trong là mô mềm tủy có tế bào chứa hóa gỗ (thành tế bào còn cellulose) hay hóa thành mô cứng riêng lẻ từng tế bào hay tụ thành từng đám tế bào thành khá dày, có nhiều tế bào thấy rõ vách ngăn ngang có lỗ rây lấm tấm.

Rễ: Ngoài cùng là lớp vỏ khá dày. Kế đến là mô mềm vỏ với những lỗ khuyết khá to xếp đều đặn. Libe cấp 2 xếp thành vòng liên tục với các tế bào nhỏ hơn tế bào mô mềm. Gỗ cấp 2 chiếm tâm với nhiều mạch to hơn tế bào mô mềm gỗ gấp 3 đến 4 lần, mô mềm gỗ với các tia gỗ khá rõ.

Bột

Bột có màu vàng lục, ít xơ, mùi thơm nhẹ, vị hơi ngọt. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì gồm các tế bào màng ngoài ngoằn ngoèo, mang khí khổng kiểu hỗn bào. Lông tiết chân đơn bào, đầu 4, 6 hoặc 8, 10 (có khi đến 16 đến 20) tế bào có dạng giống hoa mai, chứa chất tiết màu vàng nâu. Lông tiết chân dài gồm 4 đến 5 tế bào, đầu đơn bào chứa chất tiết màu hơi xanh. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn, mạch điểm, mạch mạng. Mảnh tế bào mô cứng hoặc tế bào mô cứng riêng lẻ màng dày có ống trao đổi; sợi; mảnh mô mềm; hạt tinh bột; mảnh bản; hạt phấn hoa hình cầu, không có gai, màu vàng nhạt (nếu mẫu dược liệu có hoa).

Định tính

A. Lấy 20 ml dịch lọc còn lại trong mục “Chất chiết được trong dược liệu” đem bốc hơi trên cách thủy đến cạn. Hòa cồn trong 10 ml nước nóng, lọc. Dịch lọc đem tiến hành các phản ứng sau:

Nhỏ vài giọt dịch lọc lên giấy lọc, để khô, nhỏ tiếp vài giọt dịch lọc trùng với vết cũ, để khô. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, có phát quang màu xanh dương. Nhỏ thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* lên vết dịch lọc cũ, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, có phát huỳnh quang màu vàng tươi.

Lấy 2 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*: dung dịch có màu vàng tăng lên so với ống chứng không nhỏ dung dịch natri hydroxyd.

Lấy 3 ml dịch lọc, thêm một ít bột *magnesi (TT)* và 1 ml *acid hydrocloric (TT)*. Nhúng ống nghiệm vào nước sôi khoảng 10 giây, xuất hiện màu đỏ nâu.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel G 60 F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Benzen.

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu khô cho vào bình nón dung tích 250 ml, thêm 80 ml nước. Đun sôi trong 10 phút. Gạn qua bông lấy dịch lọc. Lắc dịch lọc với 10 ml *ethyl acetat (TT)*. Dịch ethyl acetat cô cách thủy đến cạn, hòa cồn trong 2 ml *ethyl acetat (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Cam thảo nam (mẫu chuẩn) cho vào bình nón dung tích 250 ml, thêm 30 ml nước. Tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin - sulfuric (TT)*, lắc đều, lọc. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong khoảng 5 phút.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết màu tím hay xanh tím, có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu thô cho vào bình nón dung tích 250 ml có nút mài. Thêm chính xác 75 ml *ethanol 96 % (TT)*. Đậy nút, lắc đều, cân chính xác đến 0,1 g khối lượng bình và nắp. Để yên khoảng 30 phút, thỉnh thoảng lắc. Lấp sinh hàn hồi lưu. Đun cách thủy khoảng một giờ. Để nguội và cân. Điều chỉnh khối lượng bình bằng với khối lượng trước khi đun bằng cách thêm *ethanol 96 % (TT)*, lắc đều, lọc. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc cho vào chén sứ đã sấy đến khối lượng không đổi ở 100 °C, phần dịch lọc còn lại được dùng để làm phản ứng định tính. Bốc hơi dịch lọc trên bếp cách thủy cho đến cạn. Sấy ở 100 °C trong một giờ. Cân và tính kết quả.

Kết quả được tính theo công thức :

$$X \% = \frac{(a - b) \times 30\,000}{c(100 - h)}$$

Trong đó:

a là khối lượng chén có cân (g);

b là khối lượng chén không có cân (g);

c là khối lượng dược liệu đem thử (g);

h là phần trăm độ ẩm.

Dược liệu phải chứa từ 8,0 % đến 20,0 % hàm lượng chất chiết được tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái vào mùa xuân và mùa hạ, đào cả rễ, rửa sạch, phơi hay sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, cắt đoạn, vi sao.

Bảo quản

Nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, qui kinh

Cam, vị khô, hàn. Vào kinh tỳ, vị, phế, can.

Công năng, chủ trị

Bỏ tỳ, sinh tân, nhuận phế, thanh nhiệt giải độc, lợi niệu. Chủ trị: Giải độc do say sấn, rong kinh, ban chẩn, phế nhiệt gây ho, viêm họng, tiêu chảy, thấp cước khí, rôm sởi trẻ em, chàm (thấp chẩn).

Cách dùng, liều lượng

Dùng tươi: Ngày dùng từ 20 g đến 40 g.

Dùng khô: Từ 8 g đến 12 g, dịch ép.

Dạng thuốc hãm hoặc thuốc sắc.

CÁNH KIẾN TRẮNG***Benzoinum*****An tức hương**

Nhựa thơm để khô, lấy ở thân cây Bồ đề [*Styrax tonkinensis* (Pierre) Craib. ex Hardw.], họ Bồ đề (Styracaceae).

Mô tả

Tùng cục nhựa nhỏ rời nhau, to nhỏ không đều, hơi dẹt, một số dính lại với nhau thành từng khối. Bên ngoài màu vàng cam, láng bóng như sáp (nhựa do tổn thương tự nhiên); hoặc có hình trụ không đều, mảnh dẹt, bên ngoài có màu trắng xám, hơi vàng (nhựa do vết rạch). Chất giòn, dễ vỡ; mặt vỡ phẳng, màu trắng, để lâu dần dần chuyển thành nâu vàng hoặc nâu đỏ. Đun nóng thì mềm và chảy ra. Mùi thơm vani đặc biệt. Vị hơi cay, khi nhai có cảm giác sạn.

Định tính

A. Đun nóng từ từ 0,25 g dược liệu trong một ống nghiệm khô, có mùi thơm kích ứng bốc ra và nhiều tinh thể hình lăng trụ thẳng hoa bám ở thành ống nghiệm.

B. Lấy 0,1 g dược liệu vào ống nghiệm, thêm 5 ml *ethanol* 96 % (TT), nghiền, lọc. Thêm 0,5 ml *dung dịch sắt (III) clorid trong ethanol* (TT) vào dịch lọc, màu lục sáng được tạo thành sau đó chuyển sang màu lục vàng.

Mất khối lượng do làm khô

Không quá 2,0 %. Cân chính xác khoảng 2 g bột thô, để trong bình hút ẩm chứa *acid sulfuric* (TT), làm khô đến khối lượng không đổi (Phụ lục 9.6).

Chất không tan trong ethanol

Không quá 2,0 %.

Cân chính xác 2,5 g bột mịn dược liệu, cho vào bình Soxhlet, thêm *ethanol* 96 % (TT), chiết đến kiệt các

chất tan trong ethanol. Bỏ dịch ethanol, làm khô bã đến khối lượng không đổi ở 100 °C, cân xác định khối lượng của bã.

Tro toàn phần

Không quá 0,50 % (Phụ lục 9.8).

Tro sulfat

Không quá 2,0 %, dùng 1,0 g (Phụ lục 9.9).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 1,5 g bột dược liệu, cho vào 1 bình nón nút mài, thêm 25 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol* (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 1,5 giờ. Bốc hơi dịch chiết trên cách thủy đến cạn, hòa lẫn trong 50 ml nước nóng. Để nguội, thêm 150 ml nước và 50 ml *dung dịch magnesi sulfat 5 %* (TT), khuấy đều, để yên 10 phút. Lọc, rửa cặn bằng 20 ml nước. Gộp dịch lọc và nước rửa, acid hóa bằng *acid hydrocloric* (TT), sau đó chuyển vào một bình gạn, chiết lần lượt bằng 50, 40, 30 và 30 ml *ether* (TT). Gộp các dịch chiết ether rồi lại chiết lần lượt bằng 20, 20, 10, 10 và 10 ml *dung dịch natri carbonat 5 %* (TT), rửa mỗi dịch chiết nước bằng 20 ml *ether* (TT). Gộp các dịch chiết nước và acid hóa bằng *acid hydrocloric* (TT) rồi chiết lại lần lượt với 30 ml, 20 ml, 10 ml, 10 ml *ether* (TT). Gộp các dịch chiết ether và chuyển vào 1 bình nón đã cân bì, bốc hơi hết ether bằng 1 luồng không khí và quay bình để cặn lắng đều trên thành bình. Làm khô bình trong bình hút ẩm có *acid sulfuric* (TT) đến khối lượng không đổi, cân chính xác. Khối lượng của cặn là acid balsamic toàn phần trong mẫu thử. Tính hàm lượng phần trăm acid balsamic toàn phần (đã trừ lượng chất không tan trong ethanol) tính theo dược liệu khô kiệt.

Hàm lượng acid balsamic toàn phần không được ít hơn 30,0 % tính theo các chất chiết được trong ethanol.

Chế biến

Lấy nhựa từ thân cây bị tổn thương hoặc vào mùa hạ và mùa thu, rạch thân cây, thu lấy nhựa chảy ra, phơi âm can đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, trong bao bì kín.

Tính vị, qui kinh

Tân, khô, bình. Vào các kinh tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị.

Khai khiếu, thanh thần, hành khí, hoạt huyết, chỉ thống. Chủ trị: Khí uất bạo quyết, trúng ác hôn mê, tâm phúc thống, trúng phong đờm quyết, trẻ em kinh phong, sản hậu huyết vắn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 0,6 g đến 1,5 g, thường dùng dạng hoàn tán.

CÁT CÀNH (RỄ)***Radix Platycodi grandiflori***

Rễ rễ nguyên hoặc đã cạo vỏ ngoài, phơi hoặc sấy khô của cây Cát cánh [*Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC.], họ Hoa chuông (*Campanulaceae*).

Mô tả

Rễ hình trụ thuôn dần về phía dưới, đôi khi phân nhánh, phần trên còn sót lại gốc thân, có nhiều sẹo nhỏ là vết tích của rễ con, dài 5 cm đến 15 cm, đường kính 0,7 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu vàng nhạt hay vàng nâu nhạt, có nhiều rãnh nhăn nheo theo chiều dọc và những nếp nhăn ngang. Thê chất giòn, mặt bẻ không có xơ. Mặt cắt ngang màu trắng ngà, vùng tầng phát sinh libe-gỗ thành vòng rõ, màu vàng nâu nhạt; có vân như hoa cúc. Không mùi, vị ngọt sau hơi đắng.

Vi phẫu

Ở rễ không cạo vỏ, lớp bần gồm nhiều hàng tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ hẹp gồm những tế bào to nhỏ không đều, xếp lộn xộn với những khuyết nằm rải rác. Libe xếp thành tia, thỉnh thoảng có những vùng đậm lên đều đặn giống như libe kết tầng. Mạch gỗ nằm rải rác hay tụ thành đám, xếp thành những dải xuyên tâm nằm trong mô mềm gỗ không hóa gỗ. Trong cùng là mô mềm ruột gồm những tế bào gần như tròn.

Bột

Mảnh bần gồm những tế bào thành dày, màu nâu nhạt. Mảnh mô mềm có các tinh thể calci oxalat hình kim. Tinh thể inulin hình tròn hay hình quạt trong mô mềm hay bên ngoài. Mảnh mạch vạch, mạch mạng.

Định tính

A. Soi lát cắt được liệu dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, phần vỏ phát quang sáng trắng hơi vàng, phần lõi không phát quang.

B. Lấy 1 g bột được liệu, thêm 10 ml *ethanol* 70 % (TT), đun cách thủy trong 5 phút, lọc, cô dịch lọc còn khoảng 5 ml (dịch A).

Nhỏ vài giọt dịch A lên giấy lọc, nhỏ tiếp một giọt dung dịch natri hydroxyd 5 % (TT), sấy nhẹ cho khô, che nửa vết dịch A bằng miếng kim loại mỏng và soi dưới ánh sáng tử ngoại có bước sóng 365 nm trong vài phút, lấy miếng kim loại ra, phần không bị che có phát quang sáng hơn. Tiếp tục chiếu tia tử ngoại, phần bị che sẽ sáng dần lên như phần kia.

Lấy 2 ml dịch A pha loãng với nước thành 10 ml, lắc mạnh trong 15 giây, có bọt bền trong 30 phút.

C. Lấy 1 g bột được liệu, thêm 10 ml nước, đun cách thủy trong 15 phút, lọc. Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 2 ml acid hydrocloric (TT) và vài tinh thể resorcin (TT), đun cách thủy vài phút, xuất hiện tủa màu đỏ sẫm.

Độ ẩm

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1,0% (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 4 g dược liệu, cho vào dụng cụ Soxhlet, thêm 25 ml *methanol* (TT), ngâm qua đêm. Thêm 25 ml *methanol* (TT) nữa rồi chiết trong 6 giờ. Để yên trong 1 giờ. Lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy còn khoảng 15 ml đến 20 ml. Để nguội, rồi cho dịch chiết methanol vào 50 ml *ether* (TT), khuấy đều và để lắng. Loại bỏ dung dịch phía trên và hòa tan cặn bằng cách đun nóng trên cách thủy với 20 ml, 10 ml và 5 ml *methanol* (TT), để nguội và lọc, gộp các dịch lọc methanol, cô trên cách thủy còn 15 ml đến 20 ml, để nguội. Thêm 50 ml *ether* (TT), xử lý và hòa tan cặn với *methanol* (TT) tương tự như trên, lọc. Gộp tất cả các dung dịch methanol đã thu được vào một cốc đã cân bì. Bốc hơi dịch này trên cách thủy tới cặn, sấy khô ở 105 °C tới khối lượng không đổi, cân. Tính hàm lượng phần trăm của saponin trong dược liệu. Hàm lượng saponin toàn phần không được ít hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu đông hoặc mùa xuân. Đào lấy rễ, cắt bỏ đầu rễ và rễ con, rửa sạch, để ráo nước hoặc ủ khoảng 12 giờ, thái lát mỏng phơi hay sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi hay sấy khô. Dược liệu này là phiến mỏng, hình tròn hoặc không đều, thường có vỏ còn sót lại. Mặt cắt có phần ngoài màu trắng nhạt, tương đối hẹp, hình thành tầng vân vòng màu nâu nhạt. Phần gỗ rộng có nhiều khe nứt. Chất giòn, dễ bẻ gãy, mùi thơm nhẹ, vị ngọt, sau đắng. Khi dùng chích gừng.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, tân, hơi ôn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị

Ôn hóa hàn đàm, trừ mủ, lợi hầu họng. Chủ trị: Ho đờm nhiều, ngực tức, họng đau, tiếng khàn, áp xe phổi, tiêu mủ, mụn nhọt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc.

CÁT SÂM (RỄ)*Radix Millettiae speciosae*

Sâm nam, Sâm gỗ, Sơn liên ngẫu

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Cát sâm (*Millettia speciosa* Champ.), họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Rễ củ hình trụ đều hay hai đầu thuôn nhỏ, được cắt thành đoạn dài 5 cm đến 15 cm, đường kính 1 cm đến 4 cm, có khi bóc dọc thành từng miếng. Mặt ngoài màu vàng nhạt đến vàng nâu, có nhiều vết nhăn dọc và rãnh ngang. Mặt cắt ngang màu trắng ngà, nhiều bột, có những tia ruột như hình nan hoa bánh xe.

Vĩ phẫu

Lớp bên gồm 4 đến 8 hàng tế bào hình chữ nhật nằm ngang đều đặn. Tầng phát sinh ngoài có một hàng tế bào. Mô cứng gồm 3 đến 4 hàng tế bào thành dây, có chứa tinh thể calci oxalat hình thoi. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng hình đa giác. Trong mô mềm vỏ có sợi hợp thành từng bó. Libe gồm những tế bào nhỏ đều đặn. Trong libe cũng có bó sợi rải rác. Tầng phát sinh libe gỗ có một hàng tế bào. Mạch gỗ to, tròn. Xung quanh mạch gỗ có những hàng tế bào mô mềm gỗ vuông vắn xếp đều đặn. Tia ruột có 3 đến 4 hàng tế bào hình chữ nhật xếp theo hướng xuyên tâm. Mô mềm ruột gồm những tế bào hình đa giác.

Bột

Bột màu vàng nhạt. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều sợi dài có thành dày. Tinh thể calci oxalat hình thoi, mảnh mô mềm chứa tinh bột, mảnh mạch điểm. Đám tế bào mô cứng màu vàng. Hạt tinh bột hình tròn, hình chuông, hình trứng, có hạt kép đôi, kép ba, rón hình điểm hay hình chữ V.

Định tính

A. Dưới ánh sáng tử ngoại, bột dược liệu có màu trắng sáng.

B. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol* 90 % (TT), đun cách thủy trong 15 phút. Lọc lấy dịch lọc để làm các phản ứng sau:

Cho 5 ml dịch chiết vào ống nghiệm, bịt miệng ống, lắc trong 15 giây. Cột bột bên ít nhất trong vòng 10 phút.

Lấy 1 ml dịch chiết vào ống nghiệm sạch, cô cạn, hòa tan cân bằng 1 ml *anhydrid acetic* (TT), thêm từ từ theo thành ống 1 ml *acid sulfuric* (TT). Xuất hiện vòng đỏ đậm giữa 2 lớp dung dịch thử.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ xơ, gỗ không quá 1,0 %.

Tạp chất khác không quá 0,5 %.

Chế biến

Đào lấy rễ củ ở cây trồng được một năm, rửa sạch. Loại nhỏ để nguyên, loại to bóc dọc, phơi hay sấy khô,

rễ củ bên ngoài vỏ màu vàng, bên trong trắng có ít xơ, nhiều bột là tốt.

Bào chế

Lấy Cát sâm sạch, khi dùng thái mỏng, để sống hoặc tẩm nước gừng hay nước mật sao vàng.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh ẩm, mốc, mốc, dùng đến đâu bào chế đến đó.

Tính vị, quy kinh

Cam, bình. Vào các kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị

Sinh tân dịch, chỉ khát, nhuận phế, lợi tiểu. Chủ trị: Tân dịch hao tổn, háo khát, ho do phế nhiệt, đái buốt rất.

Sao vàng: Bỏ tỳ, ích khí, tiêu đờm. Tẩm gừng ích tỳ, tẩm mật bồi dưỡng cơ thể. Chủ trị: Cơ thể suy yếu, nhức đầu, khát nước, sốt về chiều, bí tiểu tiện.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 16 g đến 20 g, dạng thuốc sắc.

Kiểm kê

Không dùng chung với Lê lô; đang nôn mửa, ỉa chảy do lạnh, không phải âm hư, phổi ráo, không nên dùng.

CAU (Hạt)*Semen Arecae catechi*

Bình lang

Hạt đã phơi hay sấy khô lấy từ quả chín của cây Cau (*Areca catechu* L.), họ Cau (Arecaceae).

Mô tả

Khối cứng, hình trứng hoặc hình cầu dẹt, cao khoảng 1,5 cm đến 3,5 cm; đường kính khoảng 1,5 cm đến 3,5 cm. Đáy phẳng, ở giữa lõm, đôi khi có một cụm xơ (cuống noãn). Mặt ngoài màu nâu vàng nhạt hoặc màu nâu đỏ nhạt với những nếp nhăn hình mạng lưới. Cắt ngang thấy vỏ hạt ăn sâu vào nội nhũ tạo thành những nếp màu nâu xen kẽ với màu trắng nhạt. Phôi nhỏ nằm ở đáy hạt. Vị chát và hơi đắng.

Vĩ phẫu

Lớp ngoài của vỏ hạt gồm nhiều hàng tế bào đá dẹt, hình thon dài, xếp tiếp tuyến, chứa chất màu nâu đỏ; tế bào đá có hình dạng và kích thước khác nhau, thường có những khoảng gian bào. Lớp trong gồm nhiều lớp tế bào mô mềm, chứa chất màu nâu đỏ, rải rác có ít bó libe gỗ. Ngoại nhũ hẹp và thường ăn sâu vào nội nhũ tạo thành mô xâm nhập. Tế bào nội nhũ, hình nhiều cạnh, lỗ to đặc biệt trên thành tế bào.

Bột

Bột màu nâu đỏ, vị chát, soi kính hiển vi thấy: Tế bào đá của vỏ hạt hình bầu dục, dài, thành hơi dày. Mảnh

nội nhũ với những tế bào thành dày, có lỗ đặc sắc. Hạt aloron 5 µm đến 40 µm. Mảnh mạch.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - amoniac* lặc (9 : 1 : 0,2).

Dung dịch thử: Lấy 8 g bột thô dược liệu, thêm 50 ml *cloroform* (TT), lắc đều, thêm tiếp 4 ml *amoniac* đặc (TT), lắc siêu âm 10 phút. Lọc lấy dịch chiết *cloroform*. Rửa cặn với 10 ml *cloroform* (TT). Gộp dịch rửa với dịch chiết *cloroform*, chuyển vào bình gạn, thêm 5 ml dung dịch *acid hydrocloric 10 %* (TT) và 20 ml nước, lắc kỹ. Gạn bỏ lớp *cloroform*. Rửa lớp nước bằng 10 ml *cloroform* (TT), gạn bỏ lớp *cloroform*. Kiểm hóa lớp nước bằng *amoniac* đặc (TT) đến pH 9 đến 11 (thử bằng giấy quỳ) rồi lắc với *cloroform* (TT) hai lần, mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch chiết *cloroform*, bốc hơi trên cách thủy đến khô. Hòa tan cặn trong 1 ml *ethanol 96 %* (TT) làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 8 g bột thô hạt Cau (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch thuốc thử *Dragendorff* (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C đến 105 °C, áp suất thường đến khối lượng không đổi).

Tro toàn phần

Không quá 2,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Mảnh vỏ quả: Không quá 2,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 8 g bột thô dược liệu vào bình nón nút mài 250 ml, thêm 80 ml *ether ethylic* (TT) và 4 ml *amoniac* đậm đặc (TT), lắc trong 10 phút. Thêm 10 g *natri sulfat khan* (TT) lắc trong 5 phút, để yên. Gạn lấy lớp ether, rửa cặn bằng *ether ethylic* (TT) 3 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch chiết ether vào bình gạn, lắc với 0,5 g bột *talc* (TT) trong 3 phút, thêm 2,5 ml nước, lắc trong 3 phút. Để lắng, gạn lấy lớp ether trong ở phía trên, rửa lớp nước bằng 5 ml *ether ethylic* (TT). Gộp các dịch chiết ether vào một cốc có mỏ, để bay hơi tự nhiên đến khi còn khoảng 15 ml, chuyển

vào bình gạn. Tráng cốc bằng *ether ethylic* (TT) 2 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp dịch rửa ether vào bình gạn trên. Thêm chính xác 20 ml dung dịch *acid sulfuric 0,02 N* (CĐ) vào bình gạn, lắc kỹ. Để lắng, gạn lấy lớp acid. Rửa lớp ether 3 lần bằng nước, mỗi lần 5 ml. Gộp nước rửa với lớp acid, lọc. Rửa giấy lọc và phễu lọc bằng nước 4 lần, mỗi lần 10 ml, tập trung nước rửa vào dịch lọc. Thêm 3 đến 4 giọt dung dịch đỏ methyl (TT), định lượng bằng dung dịch *natri hydroxyd 0,02 N* (CĐ) đến khi chuyển sang màu vàng.

1 ml dung dịch *acid sulfuric 0,02 N* (CĐ) tương ứng với 0,003104 g arecolin $C_8H_{13}NO_2$.

Hàm lượng phần trăm alcaloid toàn phần của dược liệu được tính theo công thức sau:

$$X = \frac{(20 - n)31,04}{m(100 - a)}$$

Trong đó:

n là thể tích dung dịch *natri hydroxyd 0,02 N* (CĐ) đã dùng để chuẩn độ (ml);

m là khối lượng mẫu thử (g);

a là độ ẩm của dược liệu (%).

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,3 % alcaloid tan trong ether tính theo arecolin tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái quả chín, bỏ lấy hạt. Hạt được cắt lát hay bỏ đôi, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Tân, khô, ôn. Vào kinh vị, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Sát trùng tiêu tích, hành khí thông tiện, lợi thủy. Chủ trị: Trừ giun sán, sốt rét, tiểu bí, buốt rắt, bụng đầy trướng, đại tiện táo kết.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 24 g, dạng thuốc sắc.

Kiểm kỵ

Cơ thể hư nhược không nên dùng.

CAU (Vỏ quả)

Pericarpium Arecae catechi

Đại phúc bì, đại phúc mao

Vỏ quả đã bỏ vỏ ngoài (lớp vỏ màu xanh) phơi hay sấy khô của cây Cau (*Areca catechu* L.), họ Cau (*Areaceae*).

Mô tả

Đại phúc bì: Là vỏ quả cau chưa chín, bỏ vỏ ngoài. Vỏ quả cứng, lõm cong, dài 4 cm đến 7 cm, rộng 2 cm

đến 3,5 cm, vỏ dày 0,2 cm đến 0,5 cm. Phần ngoài màu xám, có vân nhăn dọc và vân ngang nhô lên. Đỉnh có vết sẹo của vòi nhụy, gốc có vết cuống quả và đài hoa. Vỏ quả trong hình vỏ sò, màu nâu tới nâu sẫm, bóng mịn và cứng, chắc. Thê nhẹ, chất rắn, có thê xé theo chiều dọc. Khi xé dọc có thể thấy sợi vỏ quả giữa. Mùi nhẹ, vị hơi se.

Đại phúc mao: Là vỏ quả cau chín, bóc vỏ quả ngoài rồi làm cho rơi ra. Đôi khi có hình bầu dục hoặc hình lõm cong. Vỏ quả ngoài có thể mất hoặc còn sót lại. Khối sợi vỏ quả giữa, dài 4 cm đến 7 cm, màu trắng ngà hay màu nâu nhạt. Thê nhẹ và xốp, chất mềm dai. Vỏ quả trong hình vỏ sò, màu nâu vàng hoặc màu nâu, mặt trong nhăn mịn, đôi khi bị gãy dọc. Hơi có mùi, vị nhạt.

Bột

Màu trắng ngà. Sợi vỏ quả giữa tụ thành bó, nhỏ, dài, đường kính 8 µm đến 15 µm, hơi hóa gỗ, các lỗ trao đổi rõ; các tế bào bao quanh bó sợi này chứa bó tinh thể silic, đường kính khoảng 8 µm. Tế bào vỏ trong không đều, hình đa giác, hơi tròn hoặc bầu dục, đường kính 48 µm đến 88 µm, các lỗ trao đổi rõ.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Vào mùa đông đến mùa xuân năm sau, hái quả chưa chín, phơi khô sau khi luộc, bóc đôi, bỏ vỏ xanh, lấy cùi, thường gọi là đại phúc bì.

Vào cuối mùa xuân đến đầu mùa thu, hái quả chín, phơi hoặc sấy khô sau khi luộc, bóc lấy cùi, đập cho xờ, phơi khô, thường gọi là đại phúc mao.

Bào chế

Đại phúc bì loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt đoạn, làm khô. Đại phúc mao loại bỏ tạp chất, rửa sạch, làm khô.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Tân, vị ôn. Vào các kinh tý vị, đại trường, tiểu trường.

Công năng, chủ trị

Hạ khí, khoan trung, hành thủy, tiêu thũng. Chủ trị: Thấp trở, khí trệ, thượng vị trướng tức, đại tiện không thông, thủy thũng, cước khí phù thũng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4,5 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Bệnh hư không có thấp nhiệt không nên dùng.

CÂU ĐĂNG

Ramulus cum Unco Uncariae

Đoạn thân hoặc cành có gai hình móc câu đã phơi hay sấy khô của cây Câu đằng (*Uncaria* sp.), họ Cà phê (Rubiaceae).

Mô tả

Thân vuông, màu nâu thẫm, được cắt đoạn 2 - 3 cm, đường kính 2 - 5 mm; một đầu thường cắt sát gần móc câu (ở phía trên). Phần lớn mẫu thân có hai móc câu cong xuống hướng vào trong, đối diện nhau; một số mẫu chỉ có một móc ở một bên và phía đối diện là một sẹo ở cao hơn. Các móc câu thường tròn hoặc hơi dẹt, đầu móc nhọn, đế tương đối rộng. Chất cứng, dai, ruột màu trắng vàng hoặc có lỗ. Không mùi, vị nhạt.

Vì phần

Thân: Biểu bì gồm một hàng tế bào hình chữ nhật thành dày. Mô mềm vỏ có những khuyết gian bào. Libe cấp 2 trong có những tế bào chứa chất nhựa màu xanh sẫm. Tầng sinh libe-gỗ. Gỗ cấp 2 xen lẫn những sợi gỗ, trong mô mềm gỗ có tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mô mềm ruột là những tế bào hình đa giác kéo dài.

Bột

Bột màu nâu. Soi kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào có 5 - 7 tế bào, đầu tế bào thuôn nhọn, thành dày, trên bề mặt chứa chất màu nâu. Sợi tụ lại từng đám, thành dày. Nhiều đám mô cứng có khoang rộng, ống trao đổi rõ. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai, mảnh mạch vạch, mạch xoắn.

Định tính

Lấy khoảng 5 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng amoniac (TT), để yên 30 phút, cho thêm 30 ml ethyl acetat (TT), lắc 5 - 10 phút, để yên 1 giờ. Gạn, lọc dịch chiết vào bình gạn có chứa sẵn 5 ml dung dịch acid sulfuric 5% (TT). Lắc đều và tách lấy lớp acid, chiết tiếp phần dung môi một lần nữa. Gộp các dịch acid cho vào các ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm 2 giọt thuốc thử Mayer (TT), xuất hiện tủa vàng nhạt.

Ống 2: Thêm 2 giọt thuốc thử Dragendorff (TT), xuất hiện tủa đỏ cam.

Ống 3: Thêm 2 giọt thuốc thử Bouchardat (TT), xuất hiện tủa nâu.

Ống 4: Thêm 2 giọt dung dịch acid picric (TT), xuất hiện tủa vàng.

Độ ẩm

Không quá 12 % (Phụ lục 9.6).

Tạp chất

Đoạn thân có gai dài quá 3 cm: Không quá 10 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Lấy các dây Câu đằng bánh tẻ, chặt lấy các đoạn có móc câu theo kích thước quy định, đem phơi nắng hoặc sấy ở 50 °C đến 60 °C cho đến khô.

Bảo quản

Đề nơi khô, mát.

Tính vị quy kinh

Cam, lương. Vào hai kinh can, tâm bào.

Công năng, chủ trị

Bình can, tức phong, trấn kinh. Chủ trị: Đau đầu, chóng mặt, hoa mắt, ù tai, sốt cao kinh giật.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 16 g, dạng thuốc sắc. Thời gian sắc thuốc không quá 10 phút.

CÂU KỶ TỬ***Fructus Lycii***

Quả chín phơi hay sấy khô của cây Câu kỷ (*Lycium barbarum* L.), họ Cà (Solanaceae).

Mô tả

Quả hình trứng dài hay trái xoan, hai đầu hơi lõm, dài 6 mm đến 20 mm, đường kính 3 mm đến 10 mm. Mặt ngoài màu đỏ cam, mềm, bóng, thường nhăn nheo. Gốc quả có vết cuống quả màu trắng còn sót lại, đỉnh quả có điểm nhỏ hơi nhô lên. Quả có nhiều hạt nhỏ hình thận dẹt, hai mặt hơi cong phồng hoặc có một mặt lõm. Hạt màu vàng nâu có nội nhũ, rón hạt là một điểm lõm nhỏ ở mép hạt. Chất mềm, vị ngọt hơi chua.

Vĩ phẫu

Vỏ quả ngoài gồm một lớp tế bào dài, vách hơi dày, bên ngoài có lớp cutin. Vỏ quả giữa có khoảng một chục lớp tế bào to nhỏ không đều, trong có tinh thể calci oxalat dạng cát và các bó libe gỗ sắp xếp không theo thứ tự nhất định. Vỏ quả trong gồm một lớp tế bào hình tròn hay hình trứng tạo thành lớp tế bào hơi nhấp nhô. Vỏ hạt gồm một lớp tế bào mô cứng hình chữ nhật ở phía ngoài, phía trong là một vài hàng tế bào bị ép dẹt. Tế bào nội nhũ hình đa giác, trong có giọt dầu. Rễ mầm được cấu tạo bởi các tế bào hình đa giác. Mô mềm lá mầm không rõ rệt.

Bột

Tế bào vỏ quả hình đa giác hoặc hình chữ nhật, to nhỏ không đều. Mảnh mạch xoắn. Tế bào vỏ hạt có vách nhấp nhô. Mảnh tế bào nội nhũ. Các giọt dầu màu vàng cam.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml nước, đun trong cách thủy trong 15 phút, lọc lấy dịch lọc. Nhỏ 1 giọt dịch lọc lên giấy lọc, sấy nhẹ cho khô. Soi vết dịch

chiết dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết dịch chiết phát quang lơ sáng. Nhỏ thêm lên vết dịch chiết 1 giọt dung dịch natri hydroxyd 2 % (TT). Huỳnh quang của vết ngả sang màu lá mạ.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - acid formic (2 : 3 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu cho vào bình nón 50 ml, thêm 20 ml nước, đun trong cách thủy trong 20 phút, để nguội, lọc lấy dịch lọc. Chiết dịch lọc với 15 ml ethyl acetat (TT) (3 lần, mỗi lần 5 ml). Gộp chung dịch chiết ethyl acetat, bay hơi đến gần trên cách thủy. Hòa tan cặn với 1 ml ethyl acetat (TT), được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 0,5 g bột Câu kỷ tử (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 %. (Phụ lục 9.6).

Tap chất

Không quá 1,0 %. (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 50,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng nước làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hè và mùa thu khi quả đã chuyển màu đỏ vàng. Sau khi phơi âm can để vỏ ngoài nhăn lại, lấy ra phơi nắng hoặc sấy nhẹ đến khi vỏ ngoài quả khô và cứng, thịt quả mềm. Loại bỏ cuống.

Bào chế

Quả thường dùng sống, hoặc tẩm rượu sao, đem sắc ngay hoặc sấy nhẹ (dưới 50 °C) đến khô giòn, tán bột hoặc phun rượu cho quả trở nên đỏ tươi, khi dùng giã nát.

Bảo quản

Nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, bình. Quy vào các kinh phế, can, thận.

Công năng, chủ trị

Tư bổ can, thận, ích tinh, sáng mắt. Chủ trị: Hư lao tinh suy biểu hiện đau thắt lưng, đầu gối, chóng mặt, ù tai, nội nhiệt gây tiểu đường, huyết hư, mờ mắt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, ngâm rượu, hoàn tán.

Kiêng kỵ

Tỳ vị hư yếu, đại tiện sống phân hoặc phân lỏng không nên dùng.

CẦU TÍCH (Thân rễ)***Rhizoma Cibotii***

Thân rễ đã loại bỏ lông và phơi hay sấy khô của cây Cu li [*Cibotium barometz* (L.) J. Sm.], họ Cầu tích (Dicksoniaceae).

Mô tả

Đoạn thân rễ đã loại bỏ lớp lông màu vàng nâu bên ngoài, mặt ngoài rất gồ ghề, khúc khuỷu, có những chỗ lồi lên thành mấu, màu nâu hoặc nâu hơi hồng, đường kính 2 cm đến 5 cm, dài 4 cm đến 10 cm, rất cứng, khó cắt, khó bẻ gãy; đôi khi còn sót lại ít lông màu vàng nâu. Dược liệu khi dùng thường đã thái thành phiến mỏng hình dạng thay đổi, mặt cắt ngang nhẵn, màu nâu hồng hay nâu nhạt, có vân.

Vì phẫu

Biểu bì gồm một hàng tế bào, bên ngoài phủ lớp cutin màu vàng. Mô mềm chiếm gần như toàn bộ vì phẫu gồm những tế bào nhiều cạnh tương đối đều đặn, trong có các hạt tinh bột nhỏ. Các trụ giữa to nhỏ khác nhau rải rác trong mô mềm, có khi nối liền thành một trụ dài. Mỗi trụ giữa cấu tạo gồm một trụ bì bên ngoài với một hàng tế bào, bên trong là libe và trong cùng là gỗ.

Bột

Mảnh biểu bì màu vàng, đôi khi có ít sợi lông màu nâu còn sót lại. Mô mềm gồm các tế bào hình nhiều cạnh hơi dài, rải rác có chứa các hạt tinh bột. Mạch gỗ hình thang. Các hạt tinh bột hình đĩa, hình trứng, đôi khi thấy rốn hạt hình vạch.

Định tính

Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol* 90 % (TT), đun trên cách thủy 15 phút, lọc. Lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:

Nhỏ một giọt dịch lọc lên giấy lọc, để khô dung môi và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Phần bên trong của vết có huỳnh quang màu vàng nhạt, rìa ngoài của vết có huỳnh quang màu lơ sáng.

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm 3 giọt đến 4 giọt *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT), xuất hiện tủa đục màu đỏ gạch. Thêm tiếp 3 giọt đến 4 giọt *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT), dung dịch chuyển sang màu nâu đỏ, trong suốt.

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm 2 giọt *dung dịch sắt* (III) *clorid* 5 % (TT), dung dịch có màu xanh rêu.

Lấy 2 ml dịch lọc, cô trên cách thủy tới gần sền sệt. Thêm vào cặn 20 ml *nước* nóng, khuấy kỹ, để nguội, lọc vào ống nghiệm. Lắc mạnh sẽ có bọt bền.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 3,5 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ lông còn sót lại: Không quá 0,5 %.

Các tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Chế biến

Thân rễ tươi được làm sạch lông bên ngoài, cắt thành đoạn dài 4 cm đến 10 cm hay thái phiến, phơi hoặc sấy đến khô.

Bào chế

Rang cát nóng, cho dược liệu đã thái phiến vào, tiếp tục rang cho cháy hết lông còn sót lại. Lấy ra để nguội, rửa sạch, ngâm nước 12 giờ, đồ kỹ cho mềm, tẩm rượu 12 giờ rồi sao vàng. Có thể tẩm muối ăn.

Bảo quản

Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh

Khô, cam, ôn. Vào hai kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Bổ can thận, mạnh gân xương, trừ phong thấp. Chủ trị: Phong hàn thấp, tay chân nhức mỏi, đau lưng, đau dây thần kinh tọa, đi tiểu nhiều.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 20 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Thận hư nhiệt, nước tiểu vàng không nên dùng.

CHÈ DÂY (Lá)***Folium Ampelopsis***

Lá đã phơi sấy khô của cây Chè dây [*Ampelopsis cantoniensis* (Hook. et Arn.) Planch.], họ Nho (Vitaceae).

Mô tả

Lá khô thường nhàu nát, khi dàn phẳng có hình trái xoan hoặc hình mũi mác, dài 2,5 cm đến 7,5 cm, phía cuống tù hay hơi tròn, đầu lá nhọn, mép có ít răng cưa. Mặt trên màu lục xám, có những vết trắng loang lổ trông như mốc, mặt dưới màu nhạt hơn. Cuống lá nhẵn, dài 3 mm đến 12 mm. Thê nhẹ, chất giòn, dễ gãy nát, mùi thơm, vị đắng sau hơi ngọt nhẹ.

Vì phẫu

Phần gân lá: Gân giữa của lá có mặt trên lồi nhiều (chiều cao phần lồi có thể bằng độ dày của phiến lá),

mặt dưới lồi ít. Biểu bì trên và dưới của phần gân lá là một lớp tế bào nhỏ, đều, xếp liên tục đều đặn, mang lông che chở đơn bào, ngắn. Mô dày gồm các tế bào thành dây, to nhỏ khác nhau, xếp thành vài lớp nằm sát lớp biểu bì. Các bó libe-gỗ gân chính gồm những bó nhỏ xếp rời nhau, có một bó ở chính giữa phía trên quay phần gỗ về tâm, các bó khác tạo thành vòng cung ở phía dưới, có phần gỗ hướng về tâm. Giữa các bó libe-gỗ có một vùng mô mềm ruột gồm những tế bào thành mỏng.

Phần phiến lá: Biểu bì trên và dưới của phiến lá gồm các tế bào nhỏ, xếp liên tục đều đặn thành 1 lớp. Mô giậu gồm 1 lớp tế bào, xếp đứng đều đặn ở sát dưới lớp biểu bì trên. Rải rác trong phiến lá có mạch xoắn, tinh thể calci oxalat hình cầu gai, bó tinh thể calci oxalat hình kim nằm trong khoang màng mỏng.

Bột

Bột màu lục xám, soi kính hiển vi thấy: Mảnh phiến lá, có thể mang các mảnh mạch, mảnh biểu bì chứa lỗ khí, lông che chở đơn bào. Nhiều tinh thể calci oxalat hình kim, rải rác hoặc tập trung thành bó. Các mảnh mạch điểm, mảnh mạch xoắn, tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đường kính 30 μm đến 35 μm .

Định tính

A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol* 90 % (TT). Đun trong cách thủy 3 phút, lọc, lấy dịch lọc (dung dịch A) cho vào 2 ống nghiệm, mỗi ống 1 ml để làm các phản ứng sau đây:

Ống 1: Thêm 5 giọt *acid hydrocloric* (TT) và một ít bột *magnesi* (TT), để vài phút, dung dịch dần chuyển từ màu vàng nhạt sang màu đỏ.

Ống 2: Thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT), dung dịch có màu xanh.

Nhỏ 2 đến 3 giọt dung dịch A lên tờ giấy lọc, để khô, đặt lên miệng lọ *amoniac đặc* (TT) đã mở nút, thấy màu vàng tăng lên rõ rệt.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: *Silica gel* G.

Dung môi khai triển: *Toluen* - *ethyl acetat* - *acid formic* (5 : 6 : 1,5).

Dung dịch thử: Dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan myricetin chuẩn và dihydromyricetin chuẩn riêng biệt trong *methanol* (TT) để được dung dịch có chứa 2 mg/ml. Hoặc lấy 0,5 g bột Chè dây (mẫu chuẩn) chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 8 μl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun hỗn hợp thuốc thử gồm *dung dịch acid boric* 10 % (TT) và *acid oxalic* 10 % (TT) (2 : 1) và sấy bản mỏng ở 100 °C đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8, dùng 1 g dược liệu, phương pháp 2).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng

Không quá 3 phần triệu Pb, 1,0 phần triệu Cd, 0,5 phần triệu Hg, 2,0 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril* - *dung dịch acid phosphoric* 0,01 M (25 : 75).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan dihydromyricetin chuẩn trong *methanol* (TT) để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 2 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu vào túi giấy lọc, thêm 50 ml *cloroform* (TT), ngâm trong 12 giờ, bỏ dịch chiết cloroform. Làm bay hơi hết cloroform trong bã dược liệu bằng cách đặt trên cách thủy. Chuyển túi giấy lọc vào bình Soxhlet, thêm 120 ml *methanol* (TT) vào bình chiết, đun sôi trong cách thủy đến khi 1 ml dịch chiết không có màu khi thêm 1 giọt *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT). Cô dịch chiết methanol đến gần cạn, để nguội, chuyển vào bình định mức 50 ml, thêm *methanol* (TT) đến vạch, lắc đều. Lấy chính xác 2 ml dịch chiết cho chảy qua cột chiết xuất pha rắn được nhồi pha tĩnh C đã hoạt hóa với tốc độ 15 giọt trong phút. Hứng dịch chiết vào bình định mức 20 ml, rửa giải bằng *methanol* 50 % (TT) với tốc độ 15 giọt trong phút, hứng lấy khoảng 17 ml dịch chiết, thêm *methanol* 50 % (TT) vừa đủ 20 ml, lắc đều, lọc qua màng lọc cỡ lỗ lọc 0,45 μm .

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm) (Lichrosorb RP 18).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 260 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl .

Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ dihydromyricetin ($\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_8$) của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng dihydromyricetin ($\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_8$) trong dược liệu.

Dược liệu phải chứa ít nhất 18,0 % dihydromyricetin ($\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_8$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái lá, loại bỏ lá sâu, già ủa, phơi khô.

Bảo quản

Đề nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị qui kinh

Cam, khô, lương. Vào kinh tỳ, vị .

Công năng chủ trị

Tiêu viêm chỉ thống, giải độc sinh cơ. Chủ trị: Đau dạ dày, tá tràng; viêm đại tràng; chậm liền sẹo.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hãm.

CHÈ VÀNG (Lá)

Folium Jasmini subtripinervis

Dây vàng

Lá đã phơi hay sấy khô của cây Vàng (*Jasminum subtriplinerve* Blume), họ Nhài (Oleaceae).

Mô tả

Lá hình bầu dục - mũi mác, đầu nhọn, phía cuống tù hay hơi tròn, dài 4 cm đến 7,5 cm, rộng 2 cm đến 4,5 cm, mép nguyên, trên có 3 gân rõ rệt. Cuống lá nhẵn, dài 0,3 cm đến 1,2 cm.

Vì phẫu

Phân gân lá: Mặt trên tương đối phẳng, mặt dưới lồi nhiều. Biểu bì là một hàng tế bào nhỏ xếp tương đối đều đặn, thành ngoài hóa cutin. Mô dày gồm vài lớp tế bào thành dày nằm sát lớp biểu bì trên và dưới. Libe-gỗ gân chính gồm cung libe ở ngoài bao lấy cung gỗ ở trong.

Phân phiến lá: Biểu bì trên và dưới giống như phần gân lá. Dưới biểu bì trên là mô giậu gồm 2 đến 3 lớp tế bào xếp dọc. Phía dưới mô giậu là mô mềm khuyết.

Bột

Màu lục, vị đắng hơi chát. Soi kính hiển vi thấy: Những mảnh phiến lá có thể thấy các lớp tế bào mô giậu. Mảnh biểu bì tế bào đa giác tương đối đều, có thể mang lỗ khí.

Định tính

A. Lấy 5 g bột thô dược liệu, thêm 50 ml *ethanol* 90 % (TT). Lắc đều rồi để yên qua đêm. Lọc rồi cô cách thủy còn khoảng 20 ml, lấy 3 ml dịch lọc đã cô, thêm 3 giọt *acid hydrochloric* (TT), thêm một ít bột *kẽm* (TT), dung dịch sủi bọt và có màu đỏ.

B. Lấy 2 g đến 3 g bột thô dược liệu, thêm 20 ml nước, đun sôi, lọc. Lấy 1 ml đến 2 ml dịch lọc đã để nguội, thêm 1 đến 2 giọt *gelatin* 2 % (TT), xuất hiện vẩn trắng đục. Tiếp tục lấy 1 ml đến 2 ml dịch lọc trên, thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 9 % (TT), xuất hiện màu xanh tím.

Độ ẩm

Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 3 giờ).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hái quanh năm, hái lá tươi về rửa sạch, phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Đề nơi khô, mát, trong bao bì kín.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, lợi thấp, hoạt huyết điều kinh, tiêu viêm. Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, kinh bế, phụ nữ sau sinh sốt cao, viêm hạch bạch huyết, viêm tử cung, viêm tuyến sữa, nhũ ung, phong thấp gây đau nhức xương, ghê lở, chốc đầu, hoàng đản.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 20 g đến 30 g dược liệu khô, dùng tươi giã nát đắp tại chỗ hoặc sắc làm nước tắm với lượng thích hợp.

CHỈ THỰC

Fructus Aurantii immaturus

Quả non được bỏ đôi hay để nguyên đã phơi hay sấy khô của cây Cam chua (*Citrus aurantium* L.) hoặc cây Cam ngọt [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], họ Cam (Rutaceae).

Mô tả

Dược liệu hình bán cầu, một số có hình cầu, đường kính 0,5 cm đến 2,5 cm. Vỏ ngoài màu lục đen hoặc màu lục nâu thẫm với những nếp nhăn và những điểm lõm hình hạt, có vết cuống quả hoặc vết sẹo của vòi nhụy. Trên mặt cắt, vỏ quả giữa hơi phồng lên, màu trắng vàng hoặc nâu vàng, dày 0,3 cm đến 1,2 cm, có 1 đến 2 hàng túi tinh dầu ở phần ngoài. Vỏ quả trong và múi quả màu nâu. Chất cứng. Mùi thơm mát, vị đắng, hơi chua.

Bột

Bột màu vàng nhạt hoặc vàng nâu, tế bào vỏ quả giữa hơi tròn hoặc không đều, phần lớn thành dày lên không đều, có dạng chuỗi ngọc. Nhìn trên bề mặt, tế bào biểu bì của vỏ quả ngoài hình đa giác, gần vuông hoặc chữ nhật, lỗ khí hơi tròn, đường kính 18 µm đến 26 µm, có 5 đến 9 tế bào kèm. Tinh thể calci oxalat có trong tế bào vỏ quả và tế bào múi, có nhiều trong tế bào sát với biểu bì, hình thoi, hình đa giác hoặc hình hai nón, đường kính 2 µm đến 24 µm. Tế bào mô mềm chứa tinh thể hesperidin màu vàng hoặc không màu, có dạng hình cầu hoặc hình khối vô định hình,

một số có gợn vân xuyên tâm. Nhiều mảnh vụn túi dầu, tế bào tiết mảnh và cong. Mạch lưới, mạch xoắn, quần bào.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 25 ml *methanol* (TT), đun hồi lưu cách thủy trong 30 phút, lọc lấy dịch lọc (dịch lọc A) để làm các phản ứng sau:

Lấy 5 ml dịch lọc A, thêm một ít bột *magnesi* (TT) và 0,5 ml *acid hydrochloric* (TT), xuất hiện màu đỏ cam đến đỏ tía.

Lấy 3 ml dịch lọc A, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT), xuất hiện màu nâu.

Lấy 3 ml dịch lọc A, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd* 1 % (TT), màu vàng tăng lên, đôi khi kèm theo một ít tủa.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (định tính synephrine) (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - amoniac (9 : 1 : 0,1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu, làm ẩm vừa đủ bằng *amoniac* (TT), thêm 30 ml *ethyl acetat* (TT), đun hồi lưu cách thủy trong 15 phút. Lọc, lắc dịch lọc *ethyl acetat* với *dung dịch acid hydrochloric* 1 % (TT) (10 ml × 2 lần). Gộp các dịch acid, kiềm hóa bằng *amoniac* (TT) đến pH 10, lắc với *ethyl acetat* (TT) (20 ml × 2 lần). Gộp các dịch chiết *ethyl acetat*, cô đến cạn và hòa cạn trong 1 ml *methanol* (TT) được *dung dịch thử*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan *synephrine* chuẩn trong *methanol* (TT) để được *dung dịch* có nồng độ 0,3 %.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi *dung dịch thử* trên. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra cho bay hết hơi *dung môi* rồi *phun thuốc thử ninhydrin* 0,5 % trong *ethanol*, sấy bản mỏng ở 105 °C trong 10 phút đến 15 phút. Sắc ký đồ của *dung dịch thử* phải có vết có cùng màu sắc (đỏ tía) và cùng giá trị R_f với vết *synephrine* của *dung dịch đối chiếu*.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (định tính hesperidin) (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển:

Hệ 1: *Ethyl acetat - acid acetic - nước* (10 : 1 : 3).

Hệ 2: *Benzen - methanol* (10 : 1).

Dung dịch thử: *Dung dịch A* lấy ở phần định tính bằng phản ứng hóa học.

Dung dịch đối chiếu: *Dung dịch hesperidin* chuẩn trong *methanol* (TT) (1 mg/ml), hòa tan bằng phương pháp đun hồi lưu.

Cách tiến hành: Chấm lên bản mỏng 20 µl mỗi *dung dịch* trên. Triển khai sắc ký theo kỹ thuật lặp lại 2 lần trên hai hệ *dung môi*. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra cho bay hết hơi *dung môi* ở nhiệt độ phòng, quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước

sóng 254 nm, sau đó phun lên bản mỏng *dung dịch sắt (III) clorid* (TT) 1 % trong *ethanol* 96 % (TT). Sắc ký đồ của *dung dịch thử* phải có vết có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với vết *hesperidin* của *dung dịch đối chiếu*.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây 1,25 mm), cho vào bình Soxhlet, thêm 100 ml *ether dầu hòa* (30 °C đến 60 °C) (TT), đun hồi lưu cách thủy trong 1 giờ và loại bỏ dịch ether. Sau đó chuyển dược liệu sang 1 bình nón 250 ml và chiết tiếp bằng cách đun hồi lưu trên cách thủy với *methanol* (TT) trong 30 phút (50 ml × 3 lần). Gộp và bốc hơi dịch chiết trên cách thủy cho đến cạn. Thêm vào cạn 5 ml *nước*, khuấy và để yên 10 phút, lọc qua phễu lọc xốp, tiếp tục rửa cạn bằng *nước* (5 ml × 4 lần) và loại bỏ *nước* rửa. Hòa tan cạn trên phễu bằng những lượng nhỏ *dung dịch natri hydroxyd* (TT) 0,2 % trong *ethanol* 70 % (TT) cho đến khi dịch lọc không còn màu vàng. Gộp các dịch lọc và chỉnh đến thể tích 100 ml trong bình định mức (*dung dịch A*). Lắc kỹ, lấy chính xác 2 ml *dung dịch A*, pha loãng thành 25 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd* (TT) 0,2 % trong *ethanol* 70 % (TT). Lắc đều. Sau 1 giờ kể từ khi bắt đầu hòa tan cạn, đo độ hấp thụ ở bước sóng 361 ± 1 nm. Tính hàm lượng *hesperidin* (C₂₈H₃₅O₁₅.H₂O) theo A (1 %, 1 cm), lấy 160 là giá trị A (1 %, 1 cm) của *hesperidin* ở 361 nm.

Hàm lượng *hesperidin* không được thấp hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào tháng 5 đến tháng 6. Nhặt những quả tự rụng, loại bỏ tạp chất, bỏ đôi theo chiều ngang những quả có đường kính trên 1 cm, quả nhỏ để nguyên phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bào chế

Chỉ thực: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày và phơi khô. Lát thái không đều hay tròn dài 2,5 cm, rộng 1,2 cm, đường kính 0,3 cm đến 1,5 cm. Vỏ ngoài lát thái có màu lục đen hay nâu thâm, vỏ giữa có màu trắng hơi vàng hay nâu hơi vàng, có 1 đến 2 hàng túi tinh dầu ở phần ngoài, vỏ trong và tép màu nâu.

Chỉ thực sao cam: Cho cam vào chảo, đun đến khi bốc khói, cho chỉ thực đã thái lát vào, sao đến khi bề mặt thuốc chuyển sang màu vàng hay thâm đều lấy ra loại bỏ cam và để nguội. Dùng 1 kg cam cho 10 kg dược liệu.

Tính vị, quy kinh

Khổ, tân, toan, hàn. Quy vào các kinh tỷ, vị.

Công năng, chủ trị

Phá khí tiêu tích, hóa đờm tiêu bí. Chủ trị: Thực tích, thực nhiệt tích ở đại tràng gây táo bón, đờm trọc ứ trệ ở ngực gây đau trong ngực, ăn không tiêu, bụng đầy trướng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai, tỷ vị hư hàn mà không đầy tích thì không nên dùng.

CHỈ XÁC***Fructus Aurantii***

Quả chưa chín đã bỏ đôi, phơi hay sấy khô của cây Cam chua (*Citrus aurantium* L.), họ Cam (Rutaceae) hoặc cây Cam ngọt [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], họ Cam (Rutaceae).

Mô tả

Chỉ xác có hình bán cầu, đường kính 3 cm đến 5 cm, vỏ quả ngoài màu nâu hoặc nâu thẫm, ở đỉnh có những điểm túi tinh dầu dạng hạt trứng xuống, thấy rõ có vết vôi nhụy còn lại hoặc vết sẹo của cuống quả. Mặt cắt lớp vỏ quả giữa màu trắng vàng, nhẵn, hơi nhô lên, dày 0,4 cm đến 1,3 cm, có 1 đến 2 hàng túi tinh dầu ở phần ngoài vỏ quả ngoài. Chất cứng, rắn, khó bẻ gãy. Ruột quả có từ 7 đến 12 múi, một số ít quả có tới 15 đến 16 múi. Múi khô, nhẵn nhéo, có màu từ nâu đến nâu thẫm, trong có hạt. Mùi thơm, vị đắng, hơi chua.

Bột

Bột màu trắng hoặc vàng nâu, tế bào vỏ quả giữa hơi tròn hoặc không đều, đa số thành tế bào dày không đều và có dạng chuỗi hạt. Nhìn trên bề mặt tế bào biểu bì vỏ quả ngoài hình đa giác, hình hơi vuông hoặc hình chữ nhật. Lỗ khí hơi tròn, đường kính 16 µm đến 34 µm, có 5 đến 9 tế bào kèm. Mô múi cam màu vàng nhạt hoặc không màu, dạng màng, tế bào biểu bì hẹp và dài, bị co lại, tế bào vỏ quả và túi dịch sắp xếp lộn xộn. Tinh thể calci oxalat có trong tế bào vỏ quả và tế bào múi, có nhiều trong tế bào sát với biểu bì, hình thoi, hình đa giác hoặc hình hai nón, đường kính 3 µm đến 30 µm. Mạch mạng, mạch xoắn và các quản bào nhỏ.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 25 ml *methanol* (TT), đun hồi lưu cách thủy trong 10 phút, lọc lấy dịch chiết (dịch chiết A) và làm các phản ứng sau:

Lấy 5 ml dịch chiết A, thêm một ít bột *magnesi* (TT) và 0,5 ml *acid hydrochloric* (TT), xuất hiện màu đỏ đến đỏ tía.

Lấy 3 ml dịch chiết A, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT), xuất hiện màu nâu.

Lấy 3 ml dịch chiết A, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd* 1 %, xuất hiện màu vàng đến vàng cam, đôi khi có kèm theo một ít tủa.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Toluen - methanol* (9 : 1).

Dung dịch thử: Dịch chiết A lấy ở phần định tính A.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan hesperidin chuẩn trong *methanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml bằng phương pháp đun hồi lưu. Nếu không có hesperidin, lấy 1 g Chỉ xác (mẫu chuẩn) chiết giống như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Soi bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 254 nm hoặc phun lên bản mỏng *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % trong *ethanol* (TT). Trên sắc ký đồ, dung dịch mẫu thử phải có vết có cùng màu và R_f với vết thu được từ dung dịch hesperidin đối chiếu hoặc có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f so với các vết của dung dịch đối chiếu chỉ xác.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây 1,25 mm), cho vào bình Soxhlet, thêm 100 ml *ether dầu hỏa* (30 °C đến 60 °C) (TT), đun hồi lưu cách thủy trong 1 giờ và loại bỏ dịch ether. Sau đó chuyển dược liệu sang bình nón dung tích 250 ml và chiết tiếp bằng cách đun hồi lưu trên cách thủy với *methanol* (TT) trong 30 phút (50 ml × 3 lần). Gộp các dịch chiết và loại dung môi cho đến cạn. Thêm vào căn 5 ml *nước*, khuấy và để yên 10 phút, lọc qua phễu lọc xốp, tiếp tục rửa căn bằng *nước* (5 ml × 4 lần) và loại bỏ *nước* rửa. Hòa tan căn trên phễu bằng những lượng nhỏ *dung dịch natri hydroxyd* (TT) 0,2 % trong *ethanol* 70 % (TT) cho đến khi dịch lọc không còn màu vàng. Gộp các dịch lọc và chỉnh đến thể tích 100 ml trong bình định mức (dung dịch A). Lắc kỹ, lấy chính xác 2 ml dung dịch A, pha loãng thành 25 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd* (TT) 0,2 % trong *ethanol* 70 % (TT), đo độ hấp thụ ở bước sóng 361 ± 1 nm. Tính hàm lượng hesperidin ($C_{28}H_{35}O_{15} \cdot H_2O$), lấy 160 là giá trị A (1 %, 1 cm) của hesperidin ở bước sóng 361 nm.

Hàm lượng hesperidin trong vỏ quả không được thấp hơn 4,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Thu hoạch vào tháng 7 đến 8, lúc trời khô ráo, hái các quả xanh, bỏ ngang làm đôi, phơi hoặc sấy nhẹ ở 40 °C đến 50 °C cho tới khô.

Bào chế

Chi xác phiến: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, nạo bỏ ruột, hột, thái lát ngang, phơi hoặc sấy khô. Lát thái hình dải hay hình cung không đều, dài 5 cm rộng đến 1,3 cm. Quan sát lát ngang bề ngoài màu nâu đến nâu thẫm, giữa có màu nâu hơi vàng hoặc trắng, có 1 lớp đến 2 lớp túi tinh dầu ở phía ngoài vỏ, đôi khi thấy tếp màu nâu hay tia đỏ, sợi cứng, mùi thơm, vị đắng, hơi chua.

Chi xác sao cám: Cho cám vào chảo, đun đến khi bốc khói cho Chi xác phiến vào sao đến khi có màu vàng thẫm lấy ra, sàng bỏ cám, để nguội. Dùng 1 kg cám cho 10 kg Chi xác. Các phiến hình dải hay hình vòng cung không đều, hơi thẫm màu, đôi khi có vết cháy, mùi thơm nhẹ.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, tân, lương. Vào các kinh tỳ, vị

Công năng, chủ trị

Phá khí hóa đờm tiêu tích (Hòa hoãn hơn Chi thực).

Chủ trị: Ngực sườn trướng đau do khí trệ, khó tiêu do đờm trệ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc. Phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Tỳ vị hư hàn không có tích trệ, phụ nữ có thai không nên dùng.

CHIÊU LIÊU (Vỏ thân)**Cortex Terminaliaen nigrovenulosae****Chiêu liêu nghệ**

Vỏ thân phơi hay sấy khô của cây Chiêu liêu (*Terminalia nigrovenulosa* Pierre ex. Laness.), họ Bàng (Combretaceae).

Mô tả

Dược liệu là những mảnh vỏ thân dài 40 cm đến 50 cm, rộng 5 cm đến 10 cm hay hơn, dày khoảng 0,8 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài có lớp bản màu trắng đến vàng nhạt, xù xì, tương đối mỏng so với vỏ. Mặt trong khá nhẵn, toàn bộ có màu đỏ sẫm, mặt bề lõm chòem. Thê chất nặng và chắc. Mùi nhẹ, vị hơi chát.

Vi phẫu

Lớp bản dày, cấu tạo bởi những tế bào hình chữ nhật có thành dày xếp đồng tâm và xuyên tâm, có chỗ nứt

rách và bong ra. Tầng sinh bản-lục bì gồm một lớp tế bào hình chữ nhật xếp khá đều đặn. Mô mềm vỏ tế bào hình chữ nhật, thành mỏng, có nhiều đám tế bào mô cứng, tinh bột và tinh thể calci oxalat. Tế bào mô cứng thường hợp thành từng đám hình chữ nhật hay hình nhiều cạnh, có thành rất dày, lỗ trao đổi rõ. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai có kích thước thay đổi. Libe cấp 2 khá dày cấu tạo bởi những tế bào có thành mỏng. Sợi libe xếp thành đám chia libe thành nhiều tầng (libe kết tầng). Xen kẽ những tầng libe là những tầng tế bào chứa đầy tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Nhiều tia tùy ngăn cách các tầng thành những ô nhỏ.

Bột

Bột màu đỏ hồng, mùi nhẹ, vị hơi chát. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bản gồm tế bào hình chữ nhật, có thành dày xếp khá đều đặn. Mảnh mô mềm gồm tế bào hình nhiều cạnh hay hình chữ nhật, chứa nhiều tinh bột và tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Tinh thể calci oxalat có rất nhiều, kích thước thay đổi từ 10 µm đến 40 µm. Mảnh mô mềm chứa chất màu (đỏ cam, đỏ nâu...). Khối có màu (vàng cam, đỏ cam, đỏ nâu...). Nhiều tế bào mô cứng hình chữ nhật hay hình nhiều cạnh, màu vàng nhạt, vách rất dày, lỗ trao đổi rõ, thường chụm thành đám. Sợi nằm riêng rẽ hay hợp thành bó. Rất nhiều hạt tinh bột có hình dạng biến thiên, tế hình vạch hay hình sao, kích thước từ 2 µm đến 5 µm đôi khi đến 10 µm.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 30 ml nước, đun trong cách thủy sôi 15 phút. Lọc qua 1 lớp đến 2 lớp giấy lọc nếu cần (dung dịch A).

Phản ứng 1: Cho vào 2 ống nghiệm, mỗi ống 2 ml dung dịch A.

Ống 1: Thêm 1 giọt đến 2 giọt thuốc thử gelatin-natri clorid (TT), xuất hiện tủa trắng đục.

Ống 2: Thêm 1 giọt đến 2 giọt dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT), dung dịch có màu xanh rêu.

Phản ứng 2: Cho vào 2 ống nghiệm, mỗi ống 2 ml dung dịch A.

Ống 1: Thêm 3 giọt thuốc thử Stiasny (TT), đun nóng trong cách thủy 10 phút, xuất hiện tủa vón màu đỏ gạch.

Thuốc thử Stiasny: Hỗn hợp formaldehyd – acid hydrocloric (2 : 1), pha trước khi dùng.

Ống 2: Thêm 1 giọt đến 2 giọt nước brom (TT), xuất hiện tủa ngà.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel 60 GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform – ethyl acetat - acid formic (5 : 4 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu cho vào bình nón dung tích 250 ml, thêm 20 ml hỗn hợp dung môi khai triển, siêu âm 30 phút, lọc. Lấy dịch lọc, bay hơi trên cách thủy đến gần cạn. Hòa cồn trong 2 ml hỗn hợp dung môi khai triển.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Chiêu liệu (mẫu chuẩn). Tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký xong, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric*. Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi xuất hiện vết.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 25,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Vào mùa thu, lấy phần vỏ ở những cây to, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Đề trong bao bì kín, để nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn, có độc.

Công năng, chủ trị

Phá huyết, hành huyết, thông kinh lạc, trục phong đờm.
Chủ trị: Tiêu chảy, kiết lỵ.

Cách dùng

Ngày dùng từ 20 g đến 40 g dạng cao lỏng hay từ 50 g đến 100 g dạng cồn thuốc (1/5). Có thể dùng dạng viên hay sirô.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai không nên dùng.

CỎ NGỌT (Lá)

Folium Steviae rebaudianae

Lá thu hái ở những cây sắp ra hoa phơi hay sấy khô của cây Cỏ ngọt [*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley], họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Lá hình trái xoan hẹp hay hình trứng ngược, màu xanh lục vàng, dài từ 2,5 cm đến 6,0 cm, rộng 1,0 cm đến

1,8 cm. Hai mặt đều có lông mịn, mép lá khía răng cưa. Mặt trên lá có 3 gân nổi rõ cùng xuất phát từ cuống lá; gân phụ phân nhánh. Vị rất ngọt.

Vị phẫu

Phần gân lá: Gân phía dưới lồi, phía trên gân phẳng hơi lõm xuống. Biểu bì trên và dưới là một hàng tế bào nhỏ, hình trứng, xếp liên tục, đều đặn, mang lông che chở đa bào cấu tạo bởi 4 tế bào đến 6 tế bào xếp thẳng hàng, đầu lông nhọn. Mô dày cấu tạo bởi 2 lớp đến 3 lớp tế bào hình tròn, có thành dày ở góc, xếp sát dưới biểu bì. Mô mềm là những tế bào hình đa giác hay tròn, thành mỏng, có kích thước không đều. Ở giữa gân thường có các số lẻ bó libe-gỗ hình tròn, có thể là 1, 3, 5 bó có cấu tạo tương tự nhau. Bó libe-gỗ ở giữa thường có kích thước lớn nhất, libe bao quanh bó gỗ, gỗ cấu tạo bởi các mạch gỗ lớn, xếp thành hàng, tập trung thành bó. Mô mềm cấu tạo bởi các tế bào hình tròn, có thành mỏng.

Phần phiến lá: Biểu bì trên và dưới là một hàng tế bào hình chữ nhật, to hơn so với biểu bì ở gân lá, mang lông che chở đa bào tương tự phần gân lá. Mô giậu cấu tạo bởi 2 hàng tế bào hình chữ nhật, xếp sát nhau và thẳng góc với biểu bì trên. Trong phiến lá có thể có một vài bó libe-gỗ nhỏ của gân phụ. Mô khuyết là những tế bào to nhỏ không đều nhau, có thành mỏng.

Bột

Bột có màu vàng lục, vị ngọt. Nhìn dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bản cấu tạo bởi những tế bào hình chữ nhật hay đa giác, xếp thành 1 lớp đến 2 lớp tế bào. Lông che chở đa bào, một dãy, cấu tạo bởi 6 tế bào đến 8 tế bào hoặc nhiều hơn, các tế bào ngắn, gần như hình vuông có 4 góc hình cung, đặc biệt ở góc lông, tế bào đầu lông có thể nhọn hoặc tù. Đôi khi thấy lông tiết đa bào hình chùy cấu tạo bởi 2 tế bào đến 3 tế bào. Mảnh mô mềm hình trứng hay chữ nhật, thành mỏng. Mảnh biểu bì mang lỗ khí, đôi khi có lông che chở. Thường thấy nhiều mảnh mạch mạng, mạch xoắn, mạch điểm. Sợi tập trung thành bó hay đứng riêng lẻ, tế bào sợi có kích thước ngắn, nhỏ, có thành dày, khoang rộng, sợi có thể mang những gai nhỏ, rất nhọn. Mô cứng cấu tạo bởi các tế bào thành dày hóa gỗ, có khoang rộng. Hạt phấn hoa to, hình cầu gai, mảnh cánh hoa cấu tạo bởi các tế bào thành mỏng, có bề mặt sần sùi.

Định tính

A. Dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, bột dược liệu có huỳnh quang màu lục vàng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *n-Butanol - acid acetic - nước* (30 : 10 : 10).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột thô dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ và đun sôi 2 phút trên cách thủy. Lọc, được dung dịch để chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch steviosid 0,25 % trong *methanol* (TT) hoặc dùng 1 g bột thô lá Cỏ ngọt (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong methanol* (TT) vừa mới pha. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi xuất hiện vết. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải có ít nhất 4 vết, trong đó vết chính có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết steviosid đối chiếu. Nếu dùng mẫu đối chiếu là lá Cỏ ngọt thì các vết của mẫu thử phải giống các vết của mẫu đối chiếu về vị trí và màu sắc.

Độ ẩm

Không quá 13 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 100 °C, 4 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ cành mang lá: Không quá 10 %.

Tạp chất khác: Không quá 1 %.

Tro toàn phần

Không quá 8,5 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 18,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 %* (TT) làm dung môi.

Chế biến

Khi cây sắp ra hoa, cắt cành ở khoảng cách trên mặt đất 10 cm đến 20 cm, hái lấy lá, loại bỏ lá già úa, đem phơi nắng nhẹ hoặc sấy ở 30 °C đến 40 °C đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh sâu mọt.

Tính vị, qui kinh

Vị ngọt, tính mát, vào kinh phế tý thận.

Công năng, chủ trị

Trừ tiêu khát, lợi tiểu, hạ huyết áp dùng trong các trường hợp đái tháo đường, đái tháo nhạt, bí tiểu tiện, huyết áp cao.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, hãm hoặc sắc uống.

CỎ NHỌ NỘI

Herba Ecliptae

Cỏ mực

Toàn bộ phần trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Cỏ nhọ nội (*Eclipta prostrata* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Thân hình trụ, có khía dọc, dài khoảng 30 cm đến 50 cm, đường kính 2 mm đến 5 mm. Mặt ngoài thân màu nâu

tím nhạt và mang lông cứng, trắng. Lá nguyên, mọc đối, hình mũi mác, màu xám đen và nhẵn nhéo, dài 2,5 cm đến 3 cm, rộng 1 cm đến 2,5 cm. Hai mặt đều có lông cứng ngắn, màu trắng. Mép phiến lá có răng cưa, to và nông. Góc phiến lá men xuống nên trông như không có cuống lá. Cụm hoa hình đầu, màu trắng, đường kính 4 mm đến 8 mm, mọc ở kẽ lá hay ngọn cành. Đầu mang 2 loại hoa: hoa cái hình lưỡi nhỏ ở ngoài, hoa lưỡng tính hình ống ở trong, có khi các hoa đã rụng chỉ còn lại tổng bao lá bắc và trục cụm hoa. Quả đóng hình trái xoan hơi dẹt, đầu cụt, màu đen. Dài 3 mm, rộng 1 mm đến 1,5 mm.

Vi phẫu

Lá: Biểu bì trên và dưới đều có lỗ khí và lông che chở đa bào thường bị gãy. Ở phần gân giữa biểu bì dưới thường có 2 đến 3 hàng tế bào mô dày, có 3 đến 7 bó libe-gỗ xếp thành hình cung. Phần phiến lá có 1 hàng mô mềm giậu chiếm 1/3 bề dày của phiến lá.

Thân: Biểu bì có lông che chở đa bào thường bị gãy. Dưới biểu bì là vòng mô dày gồm 2 đến 3 dãy tế bào. Bên trong là mô mềm vỏ, trong đó có những khuyết lớn phân bố rải rác. Trụ giữa gồm nhiều đám libe-gỗ xếp rời nhau, trên các đám mô dẫn thường có cung mô cứng.

Bột

Bột màu lục xám, lông che chở gồm 3 tế bào, bề mặt sần sùi. Mảnh biểu bì gồm tế bào thành ngoằn ngoèo có lỗ khí. Mảnh mạch xoắn. Mảnh cánh hoa với tế bào hình chữ nhật, thành hơi nhăn nhéo. Hạt phấn hoa màu vàng, hình cầu, đường kính 28 μ m đến 30 μ m, có 3 lỗ rãnh, có gai to và dài 4 μ m đến 5 μ m. Đầu nhụy gồm các tế bào mọc lồi lên.

Định tính

Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ether ethylic* (TT), ngâm 10 phút, thỉnh thoảng lắc, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm 10 giọt *acid acetic* (TT), thêm từ từ 15 giọt *acid sulfuric* (TT) theo thành ống nghiệm. Nơi tiếp giáp giữa 2 lớp chất lỏng có màu nâu đỏ, đồng thời lớp ether chuyển sang màu xanh da trời.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 20,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 0,315 mm: Không quá 8,0 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 %* (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch cây đang ra hoa, bỏ gốc, rễ, rửa sạch, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Cam, toan, hàn. Vào hai kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Lương huyết, chỉ huyết, bổ can thận. Chủ trị: Can, thận âm hư, các chứng huyết nhiệt, chứng ho ra máu, nôn ra máu, đại tiện và tiểu tiện ra máu, chảy máu cam, chảy máu dưới da, băng huyết, rong huyết, râu tóc sớm bạc, răng lợi sưng đau.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 20 g, dạng thuốc sắc hoặc viên. Có thể dùng ngoài, dược liệu tươi, lượng thích hợp.

Kiêng kỵ

Tỳ vị hư hàn, ỉa chảy phân sống không nên dùng.

CỎ TRANH (Thân rễ)***Rhizoma Imperatae cylindricae*****Bạch mao căn**

Dược liệu là thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Cỏ tranh (*Imperata cylindrica* P. Beauv), Họ Lúa (Poaceae).

Mô tả

Thân rễ hình trụ, dài 30 cm đến 40 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,4 cm. Mặt ngoài trắng ngà hay vàng nhạt, có nhiều nếp nhăn dọc và nhiều đốt, mỗi đốt dài 1 cm đến 3,5 cm, trên các đốt còn sót lại vết tích của lá vẩy và của rễ con. Dược liệu dai, dễ bẻ gãy ở đốt, mặt bẻ có sợi. Mặt cắt ngang gần hình tròn, mặt ngoài lõi lõm không đều, ở giữa thường rách nứt. Dưới ánh sáng đèn tử ngoại 365 nm, phần tủy có phát quang màu xanh lơ, phần vỏ phát quang màu vàng nhạt. Dược liệu không mùi, không vị, sau hơi ngọt.

Vi phẫu

Biểu bì gồm một lớp tế bào đều đặn. Mô cứng gồm 2 tế bào đến 4 tế bào hình đa giác, màng dày và xếp sát biểu bì. Mô mềm vỏ được cấu tạo bởi các tế bào tròn to. Giữa mô mềm vỏ có các bó libe-gỗ nhỏ là vết tích của phần rễ con. Vòng nội bì gồm 1 lớp tế bào xếp đều đặn có thành phía trong rất dày, thành 2 bên và phía ngoài mỏng. Trụ bì hóa mô cứng thành vòng liên tục. Các bó libe-gỗ tập trung ngay sát lớp trụ bì và rải rác trong phần nhu mô tủy. Mỗi bó libe-gỗ gồm 1 bao mô cứng ở xung quanh, 1 đám libe, 1 hay 2 mạch gỗ to nằm trong mô mềm gỗ, bên trong còn có thể có những tế bào nhuộm màu hồng vì còn chất cellulose. Ở những

phần thân già giữa nhu mô tủy thường có khuyết to, khuyết này nhỏ và mất dần khi gần đốt.

Bột

Bột dược liệu màu trắng ngà.

Biểu bì gồm những tế bào hình chữ nhật, vách nhăn nheo, xếp thành thành dãy dọc. Có 2 dạng sợi: có loại khoang rộng và có vách ngang; có loại thành rất dày, khoang hẹp tạo thành bó hay riêng lẻ. Nhiều loại mạch: mạch vạch, mạch chấm, mạch xoắn. Mảnh mô mềm gồm những tế bào màng mỏng.

Định tính

A. Lấy 2 g bột dược liệu cho vào 1 bình nón nút mài 50 ml, thêm 20 ml *cloroform* (TT), đun hồi lưu trên cách thủy trong 20 phút, thỉnh thoảng lắc, để nguội, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm 1 ml *anhydrid acetic* (TT), lắc đều. Để nghiêng ống nghiệm, thêm nhẹ nhàng 0,5 ml *acid sulfuric* (TT) theo thành ống. Mặt ngăn cách giữa 2 lớp xuất hiện vòng màu nâu đỏ, lớp dung dịch phía trên có màu xanh bầm và dần dần chuyển sang màu xanh xám.

B. Lấy 2 g bột dược liệu cho vào bình nón nút mài 50 ml, thêm 15 ml *ethanol* 96 % (TT), đun hồi lưu trên cách thủy trong 10 phút, lọc. Dịch lọc được chia ra các ống nghiệm và làm các phản ứng định tính sau:

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch sắt* (III) *clorid* 1 % (TT), xuất hiện màu xanh đen.

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch chì acetat* 1 % (TT), cho tủa màu vàng.

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd* 5 % (TT), xuất hiện tủa vàng.

C. Đun sôi 2 g dược liệu với 10 ml *nước* trong 10 phút, lọc. Lấy 3 ml dịch lọc, thêm 1 ml *thuốc thử Fehling A* (TT), 1 ml *thuốc thử Fehling B* (TT), đun cách thủy trong 10 phút sẽ thấy tủa màu đỏ gạch.

D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel F_{254} .

Dung môi khai triển: Benzen - ethyl acetat (8:2)

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol* 96 % (TT), đun sôi 10 phút, để nguội, lọc và bốc hơi dịch lọc tới khô. Hòa tan cặn trong 5 ml *cloroform* (TT), lọc, được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Cỏ tranh (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *dung dịch vanilin - acid sulfuric* (TT). Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi các vết hiện màu. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 13,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng nước làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu hoặc mùa xuân, lúc trời khô ráo, đào lấy thân rễ dưới đất (không dùng rễ nổi trên mặt đất), rửa sạch, tuốt bỏ sạch bẹ, bỏ hết rễ con, đem phơi.

Bào chế

Bạch mao căn: Rửa sạch, tắm nước cho hơi mềm rồi cắt thành đoạn phơi khô, sàng bỏ chất vụn.

Mao căn thán: Lấy những đoạn Bạch mao căn, cho vào nồi sao lửa mạnh tới màu nâu đen, nhưng phải tồn tính, phun nước trong, lấy ra phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo

Tính vị, quy kinh

Can, hàn. Vào kinh phế, vị, bàng quang.

Công năng chủ trị

Lương huyết, cầm huyết, thanh nhiệt, lợi tiểu. Chủ trị: Thở huyết, nục huyết, tiểu tiện ra máu, chảy máu cam do huyết nhiệt, nhiệt bệnh khát nước bứt rứt, hoàng đản, thủy thũng do viêm thận cấp tính.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 30 g, dạng thuốc sắc. Dùng tươi từ 30 g đến 60 g.

Kiêng kỵ

Người hư hỏa, không thực nhiệt, kiêng dùng.
Phụ nữ có thai, dùng thận trọng.

CỎ XƯỚC (RỄ)

Radix Achyranthis asperae

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Cỏ xước (*Achyranthes aspera* L.), họ Rau giền (*Amaranthaceae*).

Mô tả

Rễ nhỏ cong queo, bé dần từ cổ rễ tới chóp rễ, dài 10 cm đến 15 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,5 cm. Mặt ngoài màu nâu nhạt, nhẵn, đôi khi hơi nhẵn, có các vết sần của rễ con hoặc lẫn cả rễ con. Mặt cắt ngang màu nâu nhạt hơn một chút, có các vân tròn xếp tương đối đều đặn, đó là các vòng libe-gỗ.

Vi phẫu

Lớp bản cấu tạo bởi 3 đến 4 lớp tế bào hình chữ nhật, sần sùi, có chỗ bị bong ra. Mô mềm vỏ tương đối hẹp,

khoảng 4 hàng tế bào đến 5 hàng tế bào xếp lộn xộn. Thường có 3 đến 4 vòng libe-gỗ: Các vòng ngoài xếp liên tục, còn 1 đến 2 vòng trong cùng thường bị tia ruột chia thành các bó riêng lẻ đứng gần nhau, trong mỗi vòng libe và gỗ thì các libe xếp ngoài, gỗ ở phía trong. Mô mềm ruột tế bào tròn có màng mỏng. Phân cách giữa libe và gỗ là tầng phát sinh libe-gỗ không rõ.

Bột

Màu trắng xám, vị nhạt. Soi kính hiển vi thấy: Mạch gỗ thường nhỏ và hẹp, chủ yếu là mạch điểm. Sợi gồm những tế bào dài hẹp, xếp thành từng bó hoặc có khi dài ra đứng riêng lẻ, hầu hết các sợi đều trong suốt, thành mỏng. Mảnh bản màu sẫm hơi vàng, các tế bào không rõ rệt, tập hợp thành từng đám nhỏ. Mảnh mô mềm, tinh thể calci oxalat nhỏ, hình khối. Hạt tinh bột nhỏ, hình tròn.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Kim loại nặng

Không quá 20 phần triệu. Tiến hành như sau:

Dung dịch thử: Lấy 1,5 g bột dược liệu vào 1 chén bằng sứ hoặc thạch anh, có nắp đậy. Đốt dần dần để than hóa hoàn toàn. Để nguội, thêm 1 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích acid nitric (TT) và 3 thể tích acid hydrocloric (TT), bốc hơi tới khô trên cách thủy. Làm ẩm cân bằng 3 giọt acid hydrocloric (TT), thêm 10 ml nước nóng và làm ẩm trong 2 phút. Sau đó thêm 1 giọt dung dịch phenolphthalein (TT), thêm từng giọt amoniac (TT) cho đến khi dung dịch xuất hiện màu đỏ nhạt, thêm 2 ml acid acetic loãng (TT), lọc nếu cần, rửa phễu và cân bằng 10 ml nước. Chuyển dịch lọc và dịch rửa vào ống Nessler, thêm nước vừa đủ 50 ml.

Dung dịch đối chiếu: Bốc hơi đến khô 1 ml hỗn hợp (pha trước khi dùng) gồm 1 thể tích acid nitric (TT) và 3 thể tích acid hydrocloric (TT). Sau đó tiến hành như chỉ dẫn với dung dịch thử, sau đó thêm 3,0 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu và thêm nước vừa đủ 50 ml.

Cách tiến hành: Thêm 1 giọt dung dịch natri sulfid (TT₁) vào dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, lắc mạnh, để yên 5 phút. So sánh màu của 2 ống nghiệm bằng cách nhìn dọc ống hoặc quan sát trên nền trắng. Dung dịch thử không được đậm màu hơn dung dịch đối chiếu.

Chế biến

Đào rễ về, giữ sạch đất, cát, phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, toan, bình. Vào hai kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết khứ ú, bổ can thận mạnh gân xương. Chủ trị: Phong thấp, đau lưng, đau nhức xương khớp, chân tay co quắp, kinh nguyệt không đều, bế kinh đau bụng, bí tiểu tiện, đại rất buốt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 15 g. Dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai, ỉa lỏng, người di tinh không dùng.

CÓC MẦN***Herba Centipedae minimae*****Cỏ the**

Toàn cây đã rửa sạch phơi hay sấy khô của cây Cóc mần [*Centipeda minima* (L.) A. Br. et Aschers.], họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Vị thuốc sau khi phơi khô, cắt nhỏ, có thân là những đoạn, mảnh, nhỏ, mềm, phân nhánh nhỏ, màu xanh nhạt hoặc nâu xám. Trên thân, có lá nhỏ không cuống, mọc so le, mép có 1 đến 3 răng cưa nhỏ ở mỗi bên mép. Gân chính nổi rõ ở mặt dưới lá. Có nhiều rễ nhỏ, màu vàng nâu. Cụm hoa hình đầu, màu vàng nhạt, mọc ở ngọn, ở kẽ lá, đối diện với lá.

Vi phẫu

Thân: Ngoài cùng là lớp biểu bì gồm các tế bào hình chữ nhật, thành khá dày, dài 20 µm đến 30 µm, rộng 20 µm đến 25 µm, xếp đều đặn, mang lông tiết đa bào và lỗ khí; lớp cutin mỏng bên ngoài biểu bì thường có răng cưa mịn. Mô mềm vỏ gồm các tế bào hình cầu, thành mỏng, đường kính 75 µm đến 125 µm; các khuyết to cùng với các túi tiết tinh dầu nằm rải rác trong mô mềm. Các bó libe-gỗ gồm 7 đến 8 bó xếp thành vòng tròn; mô mềm ruột là những tế bào hình cầu xếp cạnh nhau, còn có những khoảng gian bào nhỏ ở các vách tiếp xúc.

Lá: Phần gân chính gồm có: biểu bì trên gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật có các lỗ khí rải rác. Mô mềm dưới lớp biểu bì gồm những tế bào hình cầu, thành mỏng. Bó libe-gỗ hình trứng; gỗ với những mạch gỗ nhỏ ở phía trên, libe ở phía dưới. Biểu bì mặt dưới lá có nhiều lỗ khí và đôi khi có lông tiết đa bào.

Phân phối lá: Mô mềm giậu gồm 2 đến 3 lớp tế bào hình chữ nhật hay hình nhiều cạnh, nằm dưới lớp biểu bì. Mô mềm khuyết gồm 2 đến 3 lớp tế bào hình bầu dục hay hình bầu dục dài, có những khuyết nhỏ. Giữa 2 lớp mô mềm là dấu vết các bó libe -gỗ.

Bột

Bột có màu xanh lục nhạt, xanh xám hoặc nâu xám, mùi hắc, vị đắng hơi tê. Quan sát dưới kính hiển vi thấy: mảnh biểu bì gồm những tế bào thành mỏng

ngoài, có nhiều lỗ khí, đường kính lỗ khí khoảng 25 µm có 4 tế bào đến 6 tế bào phụ, hình dạng không cố định. Lông che chở đa bào ở hoa (quả) dài 175 µm đến 200 µm thường bị gãy vụn; lông tiết đầu đa bào đường kính 40 µm đến 44 µm. Hạt phấn hoa hình cầu, màu vàng nâu, đường kính khoảng 20 µm, có 3 lỗ nảy mầm, mặt ngoài có nhiều gai sắc. Mảnh mạch xoắn, mạch mạng, mạch điểm. Chất tiết màu vàng nâu, nâu vàng, đỏ nâu.

Định tính

A. Cân khoảng 10 g bột thô dược liệu, cho vào bình nón có nút mài, thể tích 100 ml. Thêm 50 ml *ethanol* 80 % (TT). Đun trên cách thủy sôi 10 phút. Gạn, lọc dịch chiết. Thu hồi dung môi dưới áp suất giảm. Thêm vào cặn 5 ml *nước cất*, loại tạp bằng cách lắc với *ether dầu hòa* (30 °C đến 60 °C) (TT) (3 lần × 5 ml), loại bỏ lớp ether dầu hòa, và làm bay hết dung môi trên cách thủy sôi. Lấy dịch chiết nước còn lại, làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch chiết trên, thêm 1 ml *dung dịch vanilin* 1 % trong *ethanol* (TT), thêm vài giọt *acid sulfuric* (TT), xuất hiện màu tím hoa cà.

Lấy lượng dịch chiết còn lại ở trên, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric* 10 % (TT), đun trên cách thủy sôi 30 phút. Để nguội rồi lắc với *cloroform* (TT) (3 lần × 5 ml). Lấy 5 ml dịch chiết cloroform vào ống nghiệm, cô trên cách thủy đến cạn, thêm 2 ml *anhydrid acetic* (TT), thêm 2 giọt đến 3 giọt *acid sulfuric* (TT), xuất hiện màu đỏ tía.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *n-Butanol - ethyl acetate - nước* (4 : 1 : 5).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 10 g bột thô dược liệu, loại tạp bằng *ether dầu hòa* (30 °C đến 60 °C) (TT) trong bình Soxhlet, tải bã dược liệu để bay hết dung môi. Chiết saponin bằng *methanol* (TT), thu hồi dung môi dưới áp suất giảm tới dạng cao đặc. Hòa tan cao bằng 5 ml *nước cất*. Chiết saponin toàn phần bằng cách lắc kỹ 5 lần với *n-butanol* (TT), mỗi lần 5 ml. Gộp các dịch chiết và cô trên cách thủy đến cạn, hòa cặn trong *methanol* (TT) làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 10 g Cóc mần (mẫu chuẩn), chiết tương tự mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun hỗn hợp thuốc thử gồm dung dịch *vanilin* 1 % trong *ethanol* có thêm vài giọt *acid sulfuric* (TT). Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 105 °C đến khi các vết hiện rõ các vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Tro toàn phần

Không quá 14,8 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 2,8 % (Phụ lục 9.7).

Định lượng

Cân chính xác 10 g bột dược liệu, loại tạp bằng *ether* dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT) trong bình Soxhlet, tải mỏng để khô dược liệu. Chiết saponin bằng *ethanol* 80 % (TT) trong bình Soxhlet. Thu hồi ethanol trong dịch chiết dưới áp suất giảm tới dạng cao đặc. Hòa tan cao bằng 5 ml nước cất. Lắc kỹ với *n-butanol* (TT) 5 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp các dịch butanol, cất thu hồi dung môi n-butanol. Sấy cạn ở nhiệt độ dưới 70 °C tới khối lượng không đổi. Cân cần.

Hàm lượng saponin toàn phần của dược liệu không ít hơn 3,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái vào khoảng tháng 1 đến tháng 3, chủ yếu là cây mọc hoang. Sau khi nhổ lấy cả cây, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Trước khi dùng, rửa sạch, phơi khô, cắt nhỏ. Vi sao.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị

Khu phong thấp, tán hàn thông khiếu, tiêu sưng. Chủ trị: Cảm, tắc mũi trĩ mũi, đau họng, ho gà, hen hàn, chấn thương.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

CỐC TINH THẢO***Flos Eriocauli*****Cỏ dùi trống**

Cụm hoa và cuống cụm hoa phơi hoặc sấy nhẹ đến khô của cây Cỏ dùi trống (*Eriocaulon sexangulare* L. hoặc *Eriocaulon buergerianum* Koern.), họ Cỏ dùi trống (Eriocaulaceae).

Mô tả

Cụm hoa hình đầu, tròn dẹt, đường kính 4 mm đến 5 mm (khoảng 6 mm đối với *Eriocaulon sexangulare* L.). Lá bắc dày đặc, xếp thành nhiều lớp ở đế hoa, màu lục vàng nhạt, bóng láng, có nhiều lông tơ ở mép trên. Mặt trên của cụm hoa đầu có màu trắng xám. Sau khi cạo sát vào cụm hoa thấy nhiều bao phấn màu đen và nhiều quả nhỏ chưa chín màu vàng lục. Cuống cụm

hoa mảnh, dài ngắn khác nhau, đường kính ít khi nhỏ hơn 1 mm, màu vàng lục nhạt, bề mặt có nhiều gờ xoắn. Chất mềm khó bẻ gãy. Không mùi, vị nhạt.

Bột

Màu lục vàng. Soi kính hiển vi thấy: Các lông nhỏ có bề mặt lấm tấm. Lông che chở to, dài, có 2 tế bào đến 4 tế bào. Các mảnh tế bào biểu bì của cuống cụm hoa dài và dẹt. Các mảnh tế bào biểu bì mang lỗ khí có tế bào kèm hình chữ nhật. Tế bào vỏ quả hình gần đa giác khi nhìn trên bề mặt, thành có những nếp lồi dày lên hình chuỗi hạt. Hạt phấn hình gần cầu, có khoang hẹp.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Toluen* - *aceton* (10 : 0,6).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 30 ml *ethanol* 96 % (TT), lắc siêu âm 30 phút, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô, hòa tan cần trong 1 ml *ethanol* 96 % (TT) dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Cốc tinh thảo (mẫu chuẩn), tiến hành chiết tương tự như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc với vết đạt được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, lấy cụm hoa và cuống cụm hoa, phơi hay sấy nhẹ (50 °C đến 60 °C) đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Tân, cam, bình. Vào các kinh can, vị.

Công năng, chủ trị

Sơ tán phong nhiệt, minh mục, thoái ế. Chủ trị: Phong nhiệt mắt đỏ, sợ chói mắt, đau mắt có màng, phong nhiệt đầu thống, đau răng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

CỎI XAY*Herba Abutili indic***Ma bàn thảo, giăng xay**

Phần trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Cối xay (*Abutilon indicum* (L.) Sweet), họ Bông (Malvaceae).

Mô tả

Dược liệu gồm các đoạn thân, cành, lá, hoa, quả. Tất cả các bộ phận đều có lông. Thân lớn đường kính khoảng 1,2 cm, được cắt vát dài 1 cm đến 1,5 cm. Thân nhỏ và cành thường được cắt thành đoạn dài 3 cm đến 4 cm. Vỏ thân có vân nhăn nheo dạng lưới, màu nâu xám nhạt hay lục xám, vỏ cành thường nhăn. Lá khô bị nhăn nheo, nhàu nát, mặt trên màu lục sẫm, mặt dưới nhạt hơn, nếu ngâm nước rồi rải trên một mặt phẳng sẽ thấy lá mỏng mềm, hình tim, đầu nhọn, dài rộng khoảng 5 cm đến 10 cm. Hoa màu vàng, có cuống, mọc đơn độc ở nách lá. Quả hình cầu cụt đầu giống thót cối xay, đường kính 1,5 cm đến 2 cm, có khoảng 20 phân quả, mỗi phân quả có một vỏ nhọn như gai, có lông dày, chứa 3 hạt màu đen nhạt, hình thận.

Vi phẫu

Biểu bì trên và dưới đều có lông che chở hình tỏa tròn. Phiến lá toàn bộ là mô mềm khuyết, dưới lớp biểu bì của gân lá có mô dày, ở giữa gân lá là bó libe gỗ. Trong phần mô mềm có túi chứa chất nhầy.

Vi phẫu thân: Biểu bì có nhiều lông che chở hình tỏa tròn, ngoài ra còn có ít lông che chở đa bào một dãy; rải rác có lông tiết chân đa bào một dãy, đầu đơn bào. Trong mô mềm, có rải rác các tế bào chứa chất nhầy. Bó libe gỗ cấp 2 xếp thành vòng liên tục. Trong cùng là mô mềm ruột.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ, đem về, giữ sạch bụi, cắt thành những đoạn theo kích thước quy định, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Cam, bình. Vào các kinh tâm, đờm.

Công năng, chủ trị

Giải biểu nhiệt, hoạt huyết, lợi tiểu. Chủ trị: Cảm mạo phong nhiệt, sốt cao, đau đầu, tai ù, điếc, sốt vàng da, tiểu tiện vàng đỏ, đại rất, đại buốt, phù thũng, lở ngứa, dị ứng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

CÓT KHÍ (RỄ)*Radix Polygoni cuspidati*

Rễ củ phơi hay sấy khô của cây Cốt khí (*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.), họ Rau răm (Polygonaceae).

Mô tả

Rễ (quen gọi là củ) hình trụ cong queo, vỏ sần sùi, nhăn nheo, màu nâu xám, có các nốt lồi lên chia củ thành từng giống. Những rễ củ to được cắt thành lát mỏng 1 cm đến 2 cm, phơi khô. Mặt cắt ngang thấy phần vỏ mỏng, phần gỗ dày. Thê chất rắn, có mùi nhẹ, vị hơi se, đắng.

Vi phẫu

Lớp bần có 5 đến 7 hàng tế bào hình chữ nhật, dẹt, xếp thành dãy xuyên tâm. Lớp ngoài thường bong ra. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn, hình trứng. Libe cấp 2 bị những tia tùy rộng cắt ngang thành từng đám. Gỗ cấp 2 xếp thành vòng liên tục ở bên ngoài, bên ngoài bị những tia tùy cắt thành từng nhánh. Tia tùy rộng, mỗi tia có 7 đến 12 dãy tế bào xếp xuyên tâm. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai hay dạng hạt cát nằm rải rác khắp mô mềm vỏ và mô mềm tủy.

Bột

Màu vàng sẫm. Soi kính hiển vi thấy: mảnh bần màu vàng nâu, có tế bào hình chữ nhật, thành dày, xếp đều đặn. Mảnh mô mềm có chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đường kính 38 µm đến 40 µm. Hạt tinh bột có kích thước 6 µm đến 7 µm, rón hạt mờ.

Định tính

A. Lấy khoảng 2 g bột dược liệu, chiết bằng 10 ml *ethanol* (TT), cô dịch chiết *ethanol* đến cạn. Hòa tan cặn trong 5 ml nước. Lắc dung dịch thu được với 10 ml *ethyl acetat* (TT), nhỏ vài giọt dung dịch *ethyl acetat* lên giấy lọc, hơi nhẹ cho giấy lọc khô rồi nhỏ tiếp 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 %* (TT), để khô, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại thấy phát quang màu xanh.

B. Vi thăng hoa: Trải bột dược liệu thành lớp mỏng ở đáy chén sứ, đốt nhẹ trên đèn cồn để loại nước. Sau đó đặt lên chén sứ một miếng lam kính, bên trên có miếng bông đã thấm nước, tiếp tục đun nóng trong khoảng 5 phút đến 10 phút. Lấy lam kính ra để nguội, soi kính hiển vi thấy: tinh thể hình kim màu vàng. Sau khi nhỏ *dung dịch natri hydroxyd 10 %* (TT) lên lam kính, sẽ có màu đỏ.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (11 : 1).

Dung dịch thử: Đun hồi lưu 5 g bột dược liệu với 20 ml *ethanol 96 %* (TT) trong 10 phút. Lọc. Dịch lọc được cô đến cạn rồi hòa cặn trong 2 ml *cloroform* (TT), lọc. Lấy dịch lọc để chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Cân 5 g bột Cốt khí (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, bản mỏng được để khô ngoài không khí hay sấy nhẹ cho bay hết dung môi. Sau đó hơi nhẹ bản mỏng trên hơi amoniac đậm đặc (TT). Trên sắc ký đồ, các vết của dung dịch thử phải có màu sắc và R_f tương tự như các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 11,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng ethanol 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Đào lấy rễ củ, cắt bỏ rễ con, rửa sạch, cắt đoạn hay đem thái mỏng, phơi hay sấy khô. Trước khi dùng sao vàng.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Vi khô, vi hàn. Vào các kinh can, đờm, phế.

Công năng, chủ trị

Trừ thấp, chỉ ho, hóa đờm. Chủ trị: Xương khớp đau nhức, hoàng đản, phế nhiệt gây ho, ho nhiều đờm, mụn nhọt lở loét.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc. Dùng ngoài, lượng thích hợp, sắc lấy nước để bôi, rửa hoặc chế thành cao, bôi.

CÓT TOÁI BỎ (Thân rễ)

Rhizoma Drynariae

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Cốt toái bỏ còn gọi là Tắc kè đá [*Drynaria fortunei* (Kunze ex Mett.) J.Sm., hoặc *Drynaria bonii* H. Christ], họ Dương xỉ (Polypodiaceae).

Mô tả

Với loài *Drynaria fortunei*, dược liệu là đoạn thân rễ dẹt, cong queo, phần nhiều phân nhánh, dài 5 cm đến 15 cm, rộng 1 cm đến 2 cm, dày khoảng 3 mm, phủ dày đặc lông dạng vẩy màu nâu đến nâu tối. Đốt hết lông, dược liệu màu nâu tối. Mặt trên và hai bên thân có các vết sẹo

tròn của gốc lá lồi hoặc lõm, ít khi còn rễ hình sợi. Chất cứng, mặt cắt ngang có màu nâu, có những đốm vàng xếp thành một vòng. Vị nhạt và hơi se.

Với loài *Drynaria bonii*, đoạn thân rễ tương đối thẳng, ít phân nhánh, dài 5 cm đến 17 cm, rộng 0,6 cm đến 1 cm. Lông dạng vẩy màu vàng nâu dễ rụng, để lộ thân rễ màu vàng nâu hoặc nâu nhạt. Chất dai. Mặt cắt màu vàng.

Vi phẫu (*D. fortunei*)

Biểu bì có 1 đến 2 hàng tế bào, có phủ một lớp cutin, màu vàng nâu. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn hay bầu dục tương đối đều đặn, có màng nhẵn nhéo lượn sóng. Nhiều trụ giữa, nằm rải rác trong mô mềm. Mỗi trụ giữa gồm có trụ bì bao bọc, bên trong là libe và gỗ.

Bột (*D. fortunei*)

Màu nâu, dưới ánh sáng tử ngoại có ánh hơi vàng nâu. Soi kính hiển vi thấy: Những mảnh biểu bì vàng sẫm, mảnh mô mềm mỏng hơn, gồm những tế bào hình đa giác không đều. Mạch gỗ hình thang, tương đối ít. Rải rác có các hạt tinh bột nhỏ hình đĩa hoặc hình trứng

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - acid formic (8,5 : 1,5 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 20 ml methanol (TT), siêu âm 3 lần, mỗi lần 15 phút ở 40 °C. Lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới khô, hòa tan cần trong 1 ml methanol (TT), được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Cốt toái bỏ (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký xong, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric (TT). Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết phát quang cùng màu và cùng giá trị R_f với vết phát quang trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tỷ lệ thân rễ non: Không quá 10,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng nước làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch quanh năm, lấy thân rễ, bỏ tạp chất, cắt bỏ rễ con và phần lá còn sót lại, rửa sạch, chọn lấy các thân rễ to đạt yêu cầu, cắt thành từng mảnh, từng đoạn theo kích thước quy định rồi phơi hoặc sấy khô, có thể đốt nhẹ cho cháy lông.

Bào chế

Rửa sạch dược liệu khô, cạo sạch lông, thái mỏng phơi khô. Có khi tẩm mật hoặc tẩm rượu sao qua. Có thể lấy cát sao khô rồi cho Cốt toái bồ đã làm sạch vào, sao đến khi có màu vàng xám, phồng lên, lấy ra, loại bỏ cát, để nguội, đập cho sạch lông.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, ôn. Vào kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Bổ thận, làm liền xương, chỉ thống. Chủ trị: Thận hư, thất lưng đau, tai ù, tai điếc, răng lung lay, đau do sang chân, bong gân, gãy xương. Còn dùng ngoài điều trị hói, lang ben.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác. Dùng ngoài, lượng thích hợp.

Kiêng kỵ

Âm hư, huyết hư không có huyết ứ không nên dùng.

CƠM CHÁY (Lá)***Folium Sambuci javanicae***

Lá chết phơi hay sấy khô của cây Cơm cháy (*Sambucus javanica* Blume), họ Cơm cháy (Sambucaceae).

Mô tả

Lá khô nhăn nheo, có mùi đặc biệt, dài 9 cm đến 10 cm, rộng 3 cm đến 4 cm, hình trứng nhọn, mép lá xẻ răng cưa, mặt trên màu lục sẫm, mặt dưới màu lục nhạt. Gân lá hình lông chim, có 9 đến 12 đôi gân phụ, nổi rõ ở mặt dưới.

Vi phẫu

Gân lá: Gân lá lồi lên ở cả mặt trên và mặt dưới. Biểu bì trên gồm một hàng tế bào kích thước tương đối đều nhau, xếp đều đặn, mang lông che chở đơn bào. Mô dày gồm các tế bào có thành dày ở góc, xếp đều đặn ở dưới lớp biểu bì. Mô mềm gồm những tế bào thành mỏng, hình đa giác, kích thước không đều, xếp sát nhau. Giữa gân lá có ba đám libe-gỗ xếp thành hình vòng cung. Đám ở giữa lớn hơn đám ở hai bên. Libe gồm nhiều lớp tế bào nhỏ xếp thành cung ôm lấy gỗ. Biểu bì dưới gồm một hàng tế bào xếp đều đặn, ít hoặc không mang lông che chở.

Phiến lá: Biểu bì trên gồm một hàng tế bào kích thước tương đối đều nhau, xếp đều đặn, mang lông che chở đơn bào. Mô giậu gồm hai hàng tế bào hình chữ nhật xếp vuông góc với biểu bì trên. Biểu bì dưới gồm một hàng tế bào xếp đều đặn, ít hoặc không mang lông che chở.

Bột

Bột lá màu xanh xám, mùi đặc biệt, không vị. Lông che chở đơn bào có đầu tù, bề mặt nhẵn. Mảnh mô mềm phiến lá gồm những tế bào thành mỏng, mang lỗ khí và mạch xoắn. Mảnh mạch xoắn. Lỗ khí có 3 tế bào đến 4 tế bào phụ.

Định tính

Lấy 3 g bột dược liệu, loại chất màu bằng cách đun hồi lưu trên cách thủy ở nhiệt độ 80 °C với *ether dầu hỏa* (30 °C đến 60 °C) (TT) 2 lần, mỗi lần 30 ml. Lấy bã ra để bay hơi hết ether dầu hỏa. Cho bã vào bình nón, thêm 10 ml *ethanol* 90 % (TT), đun cách thủy 15 phút, lọc nóng. Lấy dịch chiết làm các phản ứng:

A. Nhỏ 1 giọt dịch chiết lên tờ giấy lọc, để khô rồi hơ lên miệng lọ có chứa *dung dịch amoni hydroxyd đậm đặc* (TT), màu vàng sẽ tăng lên.

B. Cho 2 ml dịch chiết vào ống nghiệm, thêm một ít bột *magnesi* (TT) và 3 giọt đến 4 giọt *acid hydrochloric* (TT) rồi đun cách thủy, dung dịch xuất hiện màu hồng.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hái lá vào khoảng tháng 5 đến 6, lúc cây chưa ra hoa, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt đoạn, phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thường xuyên phơi lại, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Khô, ôn, tiểu độc. Vào các kinh thận, bàng quang, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Lợi niệu, tiêu ung, tiêu thũng, nhuận tràng, chỉ thống. Chủ trị: Viêm thận, phù thũng, sang chấn đẹn dập, gãy xương, ngã tổn thương, nhuận tràng, lở ngứa, eczema.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 60 g, dạng thuốc sắc hoặc dùng tươi giã nát đắp tại chỗ lượng thích hợp hoặc sắc tắm hoặc bôi tại chỗ.

Kiểm kỵ

Không dùng liều cao kéo dài và khi người hư nhược.
Không dùng cho phụ nữ có thai và cho con bú.

CỦ CHÓC (Thân rễ)

Rhizoma Typhonii trilobati

Bán hạ nam, Chóc chuột

Thân rễ già được chế biến thành phiến khô của cây Chóc chuột *Typhonium trilobatum* (L.) Schott, họ Ráy (Araceae).

Mô tả

Phiến có hình tròn, hình trứng, hình bầu dục dài, đường kính thường là 0,5 cm đến 3 cm, ít khi đến 4 cm; dày 0,1 cm đến 0,3 cm; màu trắng đục, trắng ngà hay vàng nhạt. Xung quanh phiến còn ít vỏ mỏng và vết tích sẹo của rễ con. Thịt chất chắc, khô cứng, giòn, dễ bẻ gãy. Vị nhạt, gây tê lưỡi, ngứa.

Vĩ phẫu

Lớp bần gồm nhiều lớp tế bào hình chữ nhật, dài 50 µm đến 80 µm, rộng 10 µm đến 15 µm. Lớp ngoài thường bị bong tróc ra (ở thân rễ chưa chế biến). Mô mềm gồm những tế bào hình cầu, đa giác, thành mỏng, vách méo mó, đường kính 50 µm đến 120 µm. Trong mô mềm có các tế bào chứa nhiều hạt tinh bột, các bó tinh thể calci oxalat hình kim, các tế bào chứa chất nhầy. Các bó libe-gỗ nằm rải rác trong mô mềm, các bó phía trong thường lớn hơn phía ngoài, thành của các mạch gỗ ít hóa gỗ.

Bột

Màu trắng ngà hay nâu nhạt. Vị nhạt, gây tê lưỡi. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột tròn, hình chuông, hình bầu dục, hình nhiều cạnh, đứng riêng lẻ hay kép đôi, kép ba, ít khi kép 4 hoặc kép 5 đường kính từ 5 µm đến 25 µm, rốn hình vạch hơi cong. Tinh thể calci oxalat hình kim riêng lẻ hay hợp thành bó, dài 35 µm đến 40 µm. Mạch mạch vòng, mạch xoắn đường kính 15 µm đến 18 µm. Chất tiết màu vàng nâu, nâu đen.

Định tính

A. Cân 3 g bột thô được liệu trong bình nón nút mài, thấm ẩm bằng 3 ml *dung dịch ammoni hydroxyd 10 % (TT)*, để 30 phút. Thêm 8 ml *cloroform (TT)*, ngâm trong 4 giờ (thỉnh thoảng lắc nhẹ). Gạn, lọc lấy dịch cloroform. Cô cách thủy đến khi còn cặn. Hòa tan cặn trong 5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Dùng dung dịch này chia vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu đỏ.

Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.

Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa vàng cam.

B. Cân 5 g bột thô được liệu, nghiền với 10 ml nước nóng. Thêm 30 ml *ethanol 75 % (TT)*, ngâm 12 giờ. Lọc lấy dịch. Cô trên nồi cách thủy đến khi còn khoảng 3 ml.

Lấy 0,5 ml dịch chiết trên vào ống nghiệm, thêm 5 giọt *thuốc thử ninhydrin 0,1 % trong aceton (TT)*, đun sôi nhẹ trong khoảng 2 phút. Dịch thử dần chuyển màu sang tím hồng, xanh tím.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: n- Butanol - acid acetic - nước (4 : 1 : 5).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 10 g bột thô được liệu vào bình nón nút mài, thấm ẩm bằng 3 ml *dung dịch ammoni hydroxyd 10 % (TT)*, để 30 phút. Thêm 8 ml *cloroform (TT)*, ngâm trong 4 giờ (thỉnh thoảng lắc nhẹ). Gạn, lọc lấy dịch cloroform. Cô cách thủy đến khi còn khoảng 1 ml, dùng làm dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 10 g bột Củ chóc (mẫu chuẩn), tiến hành tương tự như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong ethanol 96 % (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết tương tự về màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến

Thu hoạch rễ củ vào tháng 8 hoặc tháng 9, khi cây lụi. Đào lấy rễ củ, rửa sạch, cắt bỏ rễ con. Rửa thành đồng, ủ khoảng 7 đến 10 ngày đến khi vỏ ngoài mềm nát, chà sát cho tróc hết lớp vỏ ngoài. Rửa bằng hơi nước đến khi củ chín đều (không còn nhân trắng đục). Thái phiến dày 0,2 cm đến 0,3 cm. Phơi (hoặc sấy) đến khi khô kiệt.

Bào chế

Công thức:

Bán hạ phiến	1000 g
Phèn chua (bột)	100 g
Gừng tươi	100g

Nước vo gạo vừa đủ.

Tiến hành: Lấy 1 kg gạo, vo lấy 3 lít dịch nước. Ngâm phiến bán hạ trong 2 ngày, mỗi ngày thay nước một

lần. Gạn bỏ dịch ngâm, rửa nhẹ bằng nước sạch đến khi hết nước đục trắng.

Hòa tan phen chua trong 3 lít nước sạch. Ngâm bán hạ tiếp trong 2 ngày đêm đến khi không còn “nhân trắng đục”. Vớt ra, rửa sạch, phơi khô.

Gừng tươi, giã nát, thêm 100 ml nước sạch, nghiền kỹ, ép lấy dịch. Làm 2 lần như vậy. Trộn đều dịch gừng, tẩm vào bán hạ ở trên, ủ 2 đến 3 giờ, thỉnh thoảng đảo cho dịch nước gừng thấm đều.

Sao đến khi phiến bán hạ chuyển sang màu vàng đậm. Tiêu chuẩn bán hạ chế: Phiến tròn hoặc mảnh vụn, kích thước không nhỏ hơn 0,2 cm. Thề chất khô giòn, màu vàng đậm đến nâu, cạnh phiến cháy. Mùi thơm đặc trưng của gừng. Vị cay nhẹ, không ngứa.

Định tính: Lấy 5 g bột thô dược liệu đã chế, nghiền với 10 ml nước nóng. Thêm 30 ml ethanol 75 % (TT), ngâm 12 giờ. Lọc lấy dịch. Cô trên nồi cách thủy đến khi còn khoảng 3 ml.

Cho 0,5 ml dịch chiết trên vào ống nghiệm, thêm 5 giọt dung dịch ninhydrin 0,1 % trong acetone (TT), đun sôi nhẹ trong khoảng 2 phút. Dung dịch trong ống nghiệm không chuyển màu.

Bảo quản.

Để nơi khô ráo.

Tính, vị, quy kinh

Cay, ôn. Vào kinh tỳ, vị, phế.

Công năng, chủ trị.

Hóa đàm tảo thấp, giáng nghịch chỉ nôn, giáng khí chỉ ho. Chủ trị: Nôn, buồn nôn, đầy trướng bụng; ho đờm nhiều; trệ thấp trệ ở người béo bệu.

Cách dùng, liều lượng

Dạng thuốc sắc phối hợp với vị thuốc khác.

Ngày dùng từ 4 g đến 12 g.

Dùng cho phụ nữ có thai phải phối hợp với Hoàng cầm, Bạch truật.

Kiêng kỵ

Phản Ô đầu. Không phối hợp với Phụ tử.

Không nên dùng cho người âm hư, ho khan, khạc máu. Thận trọng khi dùng cho người mang thai.

CỦ MÀI (Củ)

Tuber Dioscoreae persimilis

Hoài sơn

Rễ củ đã chế biến, phơi hay sấy khô của cây Củ mài, còn gọi là Hoài sơn (*Dioscorea persimilis* Prain et Burkill), họ Củ nâu (*Dioscoreaceae*).

Mô tả

Rễ củ phình to có nhiều hình dạng, thường có hình trụ, thẳng hay cong, dài từ 5 cm trở lên, có thể dài tới 1 m, đường kính 1 cm đến 3 cm, có thể tới 10 cm, mặt

ngoài màu vàng nâu, nhẵn, chất chắc, vết bẻ có nhiều bột màu trắng ngà, không có xơ.

Bột

Nhiều hạt tinh bột hình trứng hay hình chuông, dài 10 µm đến 60 µm, rộng khoảng 15 µm đến 50 µm, có vân đồng tâm, rón lệch tâm, hình chấm hay hình vạch. Tinh thể calci oxalat hình kim dài 35 µm đến 50 µm. Mảnh mô mềm gồm các tế bào thành mỏng, chứa tinh bột. Mảnh mạch mạng.

Định tính

A. Dưới ánh sáng tử ngoại bột dược liệu phát quang màu trắng sáng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 5 ml hỗn hợp cloroform - methanol (4 : 1), đun sôi dưới ống sinh hàn hồi lưu khoảng 10 phút. Để nguội, lọc, cô dịch lọc còn khoảng 1 ml.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Củ mài (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl đến 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, phun dung dịch vanilin (TT) 1 % trong hỗn hợp acid phosphoric - methanol (1 : 1). Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 15 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu tím và giá trị R_f tương tự các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 70 °C).

Tro toàn phần

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất: Không quá 0,5 %.

Dược liệu có màu vàng và đỏ: Không được có.

Chế biến

Đào lấy dược liệu, rửa sạch, gọt vỏ, ngâm nước phen chua 2 % khoảng 2 đến 4 giờ. Vớt ra rửa sạch, cho vào lò sấy lưu huỳnh đến khi củ mềm. Phơi hay sấy cho se. Tiếp tục sấy lưu huỳnh 24 giờ. Phơi hay sấy ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C đến khô.

Bào chế

Dược liệu đã loại bỏ tạp chất, phân loại lớn nhỏ, rửa sạch, ngâm tới khi mềm thấu (độ 1 đến 2 giờ), ủ một đêm, thái lát, phơi khô, dùng sống hoặc có thể sao qua. Dược liệu sao cám: Rãi cám vào nồi, đun nóng đến khi bốc khói, cho dược liệu vào, sao đến khi có màu vàng nhạt, rây bỏ cám, để nguội, cứ 100 kg dược liệu, cần dùng 10 kg cám.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh sâu, mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, bình. Vào các kinh tý vị, phế, thận.

Công năng, chủ trị

Bổ tỳ, dưỡng vị, chỉ tả, sinh tân, ích phế, bổ thận, sáp tinh. Chủ trị: Kém ăn, tiêu chảy lâu ngày, phế hư, ho suyễn, di tinh, đới hạ, tiêu khát.

Dược liệu sao cám: Tăng tác dụng kiện tỳ vị.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 30 g, dạng thuốc sắc hay thuốc bột.

Kiêng kỵ

Có thực tả thấp nhiệt thì không dùng.

CỦ SÚNG

Radix Nymphaeae stellatae

Khiếm thực nam

Rễ phụ phát triển thành củ xung quanh rễ cái, đã được phơi hay sấy khô của cây Súng (*Nymphaea stellata* Willd.), họ Súng (Nymphaeaceae).

Mô tả

Củ hình trứng, dài 0,7 cm đến 1 cm, đường kính 0,6 cm đến 0,9 cm. Một đầu lõm sâu, đầu kia có 3 vết lõm nhỏ, hẹp và nông. Mặt ngoài màu vàng ngà, trong trắng ngà hoặc trắng xám, chất cứng giòn, củ nhiều chất bột, vị hơi ngọt.

Bột

Màu trắng hơi xám. Soi kính hiển vi thấy: nhiều hạt tinh bột hình tròn, hình trứng hoặc hình chuông, dài 4 µm đến 32 µm, rộng 4 µm đến 30 µm. Hạt tinh bột đơn hoặc kép đôi, kép ba, có khi thấy rốn hình vạch hơi cong hoặc phân nhánh. Mảnh mô mềm có tế bào chứa nhiều hạt tinh bột. Mảnh mạch vạch ít gặp.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - toluen (90 : 10 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu cho vào bình nón 50 ml, thêm 5 ml ethanol (TT), ngâm trong 30 phút, thỉnh thoảng lắc, lọc lấy dịch lọc. Dịch lọc đem bốc hơi trên cách thủy còn khoảng 1 ml, được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1 g bột Củ súng (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch acid sulfuric 20 % (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải

có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tỷ lệ vụn nát (Phụ lục 12.12)

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 30,0.

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ củ biến màu: Không quá 1,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Chế biến

Thu hái quanh năm. Nhổ lấy rễ củ con, rửa sạch vỏ ngoài, phơi hoặc sấy khô, loại có thịt trắng ngà là tốt.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, sao vàng, tán nhỏ.

Bảo quản

Đề nơi khô, trong bao bì kín, tránh mốc. Thường xuyên phơi sấy lại.

Tính vị, quy kinh

Vị cam, sáp, bình. Vào các kinh tý, thận.

Công năng, chủ trị

Kiến tỳ, trừ thấp, bổ thận, bổ dưỡng, cố sáp. Chủ trị: Thận hư gây di tinh, mộng tinh, hoạt tinh, bạch đới, bạch trọc, đới sẫm, viêm thận, bàng quang, đau lưng mỏi gối, tỳ hư gây tiết tả.

Cách dùng liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 30 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán.

Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ

Đại tiện táo bón, tiểu tiện bí không nên dùng.

CÚC HOA VÀNG (Cụm hoa)

Flos Chrysanthemi indic

Cam cúc, Kim cúc

Cụm hoa (quen gọi là hoa) đã chế biến và phơi hay sấy khô của cây Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Cụm hoa hình đầu, màu vàng hơi nâu, đôi khi còn dính cuống; đường kính 0,5 cm đến 1,2 cm. Tổng bao gồm 4 đến 5 hàng lá bắc, mặt ngoài màu xanh hơi xám hoặc nâu nhạt, ở giữa hai bên mép rất nhạt và khô xác. Có 2 loại hoa: Hoa hình lưỡi nhỏ một vòng, đơn tính, không đều ở phía ngoài; nhiều hoa hình ống, đều, mẫu năm, lưỡng tính ở phía trong. Chất nhẹ, mùi thơm, vị đắng.

Bột

Bột hoa màu vàng, mùi thơm. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh cánh hoa màu vàng có tế bào thành mỏng nhẵn nheo. Mảnh lá bắc có tế bào dài thành mỏng và tế bào dài thành dày, có ống trao đổi rõ. Hạt phấn hoa hình cầu có gai, màu vàng. Lông che chở bị gãy vụn. Mảnh núm nhụy có tế bào đầu tròn, kết lớp lên nhau, ở đầu núm tế bào dài nhô ra.

Định tính

A. Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol* 96 % (TT), đun sôi dưới ống sinh hàn hồi lưu khoảng 30 phút, lọc được dịch lọc A. Lấy 2 ml dịch lọc A, thêm một ít bột *magnesi* (TT) và 3 giọt đến 4 giọt *acid hydrochloric* (TT), đun nóng, xuất hiện màu đỏ.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - acid formic - nước* (8 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 ml dịch lọc A, bốc hơi tới cạn, hòa tan căn trong 20 ml nước nóng, lọc rồi lọc 2 lần với *ethyl acetat* (TT), mỗi lần 10 ml, tập trung dịch chiết *ethyl acetat*, cô tới cạn, hòa căn trong 1 ml *ethanol* (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 3 g bột Cúc hoa vàng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, hiện màu bằng hơi *amoniac* (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết (6 vết, trong đó có 4 vết màu vàng nâu và 2 vết màu vàng xanh) có cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13, dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ để thử).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát

Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.12).

Kim loại nặng

Không quá 10 phần triệu Pb; 0,5 phần triệu Cd, 0,5 phần triệu Hg; 1 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Chế biến

Lúc trời khô ráo vào mùa thu đông, hái hoa, đem xông lưu huỳnh, nén chặt khoảng một đêm tới khi thấy nước chảy ra có màu đen thì đem phơi nắng hoặc sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô, định kỳ xông lưu huỳnh.

Tính vị, qui kinh

Cara, bình. Vào các kinh tỳ vị, phế, thận.

Công năng, chủ trị

Kiện tỳ, dưỡng vị, ích phế, bổ thận, chỉ tả lý. Dùng khi kém ăn, tiêu chảy lâu ngày, ho suyễn, di tinh, đái hạ, tiêu khát.

Dược liệu sao cam tắng tác dụng kiện tỳ vị.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 30 g dạng thuốc sắc hay thuốc bột.

Kiêng kỵ

Có thực tả thấp nhiệt thì không dùng.

DẠ CẨM***Herba Hedyotidis capitellatae*****Cây loét mồm**

Phần trên mặt đất phơi hay sấy khô của cây Dạ cẩm (*Hedyotis capitellata* Wall. ex G. Don), họ Cà phê (Rubiaceae).

Mô tả

Thân, cành non có hình 4 cạnh, đa phần thân tròn, phình lên ở các đốt. Lá đơn nguyên, mọc đối, hình bầu dục hoặc hình trứng, tròn hay nhọn ở gốc, đầu nhọn, dài 5 cm đến 15 cm, rộng 3 cm đến 5 cm, mặt trên xanh sẫm bóng, mặt dưới nhạt; cuống ngắn; gân lá nổi rõ ở mặt dưới lá. Lá kèm chia 4 đến 5 thùy hình kim. Cụm hoa là một xim phân đôi, mọc ở kẽ lá hoặc đầu cành, gồm những tán tròn mang hoa màu trắng hoặc trắng vàng. Đài 4 thùy hình ngọn giáo nhọn, nhẵn. Tràng hợp hình ống, 4 cánh hình ngọn giáo, hơi có lông ở mặt ngoài, ống tràng có lông ở họng, nhị 4, chỉ nhị ngắn, bao phấn dài, vượt ra ngoài ống tràng, bầu dưới 2 ô, có lông. Quả nang chứa nhiều hạt rất nhỏ. Toàn cây có lông mịn.

Vi phẫu

Lá: Biểu bì trên và dưới là một lớp tế bào nhỏ, tương đối đều nhau, mang lông che chở đa bào.

Phần gân lá có mô dày gồm những tế bào thành dày xếp đều đặn dưới lớp tế bào biểu bì ở phía lõm và phía lồi của gân chính. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn hay hình đa giác xếp lộn xộn, kích thước không đều nhau, thành mỏng. Bó lie-gỗ hình cung nằm ở giữa gân lá, cung libe ở ngoài ôm lấy gỗ ở trong.

Phiến lá: Sau lớp biểu bì trên là 2 hàng tế bào mô giậu xếp vuông góc với biểu bì trên. Mô khuyết.

Thân: Ngoài cùng là lớp biểu bì có lông che chở đa bào. Mô dày gồm 2 đến 3 lớp tế bào thành dày xếp sát lớp biểu bì (ở thân già thì ngoài cùng là lớp bản, không có mô dày). Mô mềm vỏ gồm các tế bào hình đa giác, thành mỏng xếp lộn xộn. Các bó libe xếp sát nhau thành vòng liên tục, tầng phát sinh libe-gỗ, mô mềm gỗ tạo thành vòng. Tế bào mô mềm ruột to, tròn.

Bột

Màu xanh lục, soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì là những tế bào hình chữ nhật tương đối đều nhau, có đỉnh lông che chở đa bào. Mảnh mô mềm gồm những tế bào đa giác thành mỏng. Bó sợi dài. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh mạch mạng, mạch xoắn.

Định tính

Lấy 10 g bột dược liệu, thấm ẩm dược liệu bằng *amoniac đặc (TT)*, để yên 45 phút. Cho vào bình Soxhlet, thêm 50 ml *cloroform (TT)*, chiết trong 3 giờ. Lấy dịch chiết cất thu hồi dung môi, hòa tan cặn trong *dung dịch acid sulfuric 5 % (TT)* (2 lần, mỗi lần 5 ml). Lấy phần dịch acid vào bình gạn, chiết với *ether (TT)* 3 lần, mỗi lần 5 ml, bỏ dịch chiết ether lấy phần dịch acid đặt trên cách thủy để đuổi hết hơi ether, kiểm hóa dịch chiết acid bằng *amoniac đặc (TT)* đến pH 10 rồi chiết với *cloroform (TT)* 3 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, bay hơi dung môi tới cặn, hòa cặn trong 5 ml *dung dịch acid sulfuric 5 % (TT)*, lọc, cho dịch lọc vào 4 ống nghiệm để làm các phản ứng sau đây:

Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa vàng nhạt.

Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa đỏ cam.

Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.

Ống 4: Thêm 2 giọt *dung dịch acid picric 10 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng.

Độ ẩm

Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch quanh năm, lấy phần trên mặt đất của cây, phần nhiều là lá và ngọn, rửa sạch, loại tạp chất, chặt thành đoạn 5 cm đến 6 cm, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Đề nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh

Cam, vị khổ, bình. Vào hai kinh tỳ, vị.

Công năng chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, chỉ thống tiêu viêm, lợi tiểu. Chủ trị: Các bệnh viêm loét dạ dày, lở miệng lưỡi, viêm họng, lở loét ngoài da.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 20 g đến 40 g lá khô, chia làm 2 lần, dạng thuốc sắc hoặc hãm, thuốc cao, thuốc bột hoặc cốm, uống vào lúc đau và trước khi ăn.

Làm chóng lên da non: Lá tươi giã với muối, đắp nơi đau.

DÀNH DÀNH (Quả)***Fructus Gardeniae*****Chi tử**

Quả chín phơi hay sấy khô của cây Dành dành (*Gardenia jasminoides* Ellis), họ Cà phê (Rubiaceae).

Mô tả

Quả hình thoi hoặc hình trứng hẹp, dài 2 cm đến 4,5 cm, đường kính 1 cm đến 2 cm, màu vàng cam đến đỏ nâu, có khi nâu xám đến đỏ xám, hơi bóng, có 5 đến 8 đường gờ chạy dọc quả, giữa 2 gờ là rãnh rõ rệt. Đỉnh quả lõm có 5 đến 8 lá đài tồn tại, thường bị gãy rụng. Gốc quả hẹp, còn có vết cuống quả. Vỏ quả mỏng, giòn, hơi bóng. Vỏ quả giữa màu vàng đục, dày hơn. Vỏ quả trong màu vàng ngà, bóng, rất mỏng, có 2 đến 3 vách ngăn giả. Hạt nhỏ, màu vàng cam, nâu đỏ hoặc nâu đen nhạt, mặt vỏ hạt có rất nhiều hạt mịn. Mùi nhẹ. Vị hơi chua và đắng.

Vĩ phẫu

Vỏ quả ngoài gồm một lớp tế bào, vỏ quả giữa gồm nhiều lớp tế bào hình chữ nhật và trái xoan, không đều, rải rác có bó libe-gỗ và tế bào mô cứng. Vỏ quả trong gồm 2 đến 3 lớp tế bào mô cứng màu vàng nhạt, thành dày. Vỏ hạt gồm 2 lớp tế bào, lớp ngoài thành dày, lớp trong thành mỏng. Tế bào nội nhũ hình nhiều cạnh, trong có chứa giọt dầu và hạt tinh bột.

Bột

Màu vàng nâu hay màu nâu đỏ.

Đám sợi, đám mô cứng gồm 2 loại tế bào, một loại tế bào nhỏ hình chữ nhật dài, khoang hẹp, ống trao đổi không rõ rệt (thường thấy ở vỏ quả). Một loại tế bào hình đa giác lớn hơn, khoang rộng, thành tương đối dày, trong khoang chứa chất màu vàng nâu. Mô mềm vỏ quả gồm những tế bào hình đa giác, thành mỏng. Mảnh nội nhũ gồm những tế bào hình đa giác tương đối đều đặn, chứa đầy chất dự trữ.

Tế bào đá ở vỏ quả hình chữ nhật, đường kính khoảng 10 µm, có khi dài tới 110 µm xếp chéo hình thể khảm, có tế bào hình tròn hay đa giác, đường kính 17 µm đến 31 µm, thành dày, khoang chứa những tinh thể calci oxalat hình lăng trụ đường kính 8 µm. Tế bào đá vỏ hạt màu vàng hoặc nâu nhạt, hình đa giác dài, hình chữ nhật hay hình không đều, đường kính 60 µm đến 112 µm, dài tới 230 µm, có thành dày, có lỗ rỗng và một khoang màu đỏ nâu. Cụm tinh thể calci oxalat đường kính 19 µm đến 34 µm.

Định tính

A. Lấy 0,2 g bột dược liệu, thêm 5 ml *nước*, đun trong cách thủy 3 phút, lọc, bốc hơi 5 giọt dịch lọc đến khô trên đĩa sứ, nhỏ 1 giọt *acid sulfuric (TT)* lên cặn, màu lục xanh lơ xuất hiện, nhanh chóng chuyển sang màu nâu rồi nâu tía.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - aceton - acid formic - nước (5 : 5 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml methanol 50 % (TT), siêu âm khoảng 40 phút hoặc đun cách thủy 2 giờ, lọc. Dịch lọc được dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch jasminoidin (geniposid) trong ethanol 96 % (TT) có nồng độ 4 mg/ml. Nếu không có jasminoidin thì dùng 1 g bột Dành dành (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun hỗn hợp ethanol - acid sulfuric (10 : 5). Sấy bản mỏng 10 phút ở 100 °C. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 8,5 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 100 °C đến 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ hạt non, lép, vỡ không quá 2,0 %.

Tỷ lệ nhân đen không quá 0,5 %.

Chế biến

Thu hoạch vào tháng 9 đến 11, hái lấy quả chín chuyển màu vàng đỏ, ngắt bỏ cuống quả và loại tạp, đồ hoặc luộc đến khi hạt hơi phồng lên, lấy ra bỏ vỏ lấy hạt đem phơi hoặc sấy khô. Trước khi dùng tiến hành phức chế.

Bào chế

Chi tử sao vàng: Lấy hạt sạch, sao lửa nhỏ đến màu nâu vàng, lấy ra để nguội.

Chi tử sao xém (Tiêu chi tử): Lấy hạt sạch, dùng lửa vừa sao đến khi mặt ngoài dược liệu vàng xém, mặt bên màu thâm là được, lấy ra để nguội. Khi sao xém dược liệu dễ cháy, có thể phun một ít nước, lấy ra phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thoáng, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn. Vào các kinh tâm, phế, tam tiêu.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt trừ phiền, lợi tiểu, lương huyết chỉ huyết. Chủ trị: Sốt cao, tâm phiền, hoàng đản tiểu đỏ, đi tiểu ra máu, nôn ra máu, chảy máu cam, mắt đỏ sưng đau, dùng ngoài trị sưng đau do sang chấn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc. Dùng ngoài, Sinh chi tử lượng thích hợp, bôi, đắp.

Kiêng kỵ

Người suy nhược, tỳ vị hư hàn, tiêu hóa kém, ỉa chảy không nên dùng.

DÂM DƯƠNG HOẮC

Herba Epimedii

Phân trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của các loài Dâm dương hoắc lá hình tim (*Epimedium brevicornum* Maxim.), Dâm dương hoắc lá mác [*Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.], Dâm dương hoắc lông mềm (*Epimedium pubescens* Maxim.), Dâm dương hoắc Triều Tiên (*Epimedium koreanum* Nakai) hoặc Vu Sơn Dâm dương hoắc (*Epimedium wushanense* T.S Ying), họ Hoàng liên gai (Berberidaceae).

Mô tả

Dâm dương hoắc lá hình tim: Thân hình trụ tròn nhỏ, dài chừng 20 cm, mặt ngoài màu lục hơi vàng hoặc màu vàng nhạt, sáng bóng. Lá kép mọc đối hai lần ba lá chét. Lá chét hình trứng, dài 3 cm đến 8 cm, rộng 2 cm đến 6 cm, đầu lá hơi nhọn. Lá chét tận cùng có đáy hình tim, hai lá chét bên nhỏ hơn, hình tim lệch, tai phía ngoài to hơn, mép có răng cưa nhỏ như gai, màu vàng, mặt trên màu lục hơi vàng, mặt dưới màu lục hơi xám, có 7 đến 9 gân nổi lên, các gân nhỏ dạng mắt lưới nhìn rõ, cuống nhỏ. Phiến lá dai gần như da, không mùi, vị hơi đắng.

Dâm dương hoắc lá mác: Lá kép xẻ ba, lá chét hình trứng hẹp, hình mác, dài 4 cm đến 12 cm, rộng 2,5 cm đến 5 cm, đầu nhọn, các lá chét bên có đáy xiên chéo rõ, phía ngoài đầu giống mũi tên. Mặt dưới lá phủ lông ngắn, thô, thưa, mặt trên hầu như không có lông. Phiến lá dai như da.

Dâm dương hoắc lông mềm: Mặt dưới phiến lá và cuống lá phủ nhiều lông mềm (lông nhung).

Dâm dương hoắc Triều Tiên: Lá chét tương đối to, dài 4 cm đến 10 cm, rộng 3 cm đến 7 cm, đầu nhọn kéo dài ra, phiến lá mỏng hơn.

Vu Sơn Dâm dương hoắc: Phiến lá chét hình mác hoặc hình mác hẹp, dài 9 cm đến 23 cm, rộng 1,8 cm đến 4,5 cm đầu nhỏ dần hoặc nhỏ kéo dài ra, mép có răng cưa nhỏ, gốc lá xẻ lệch, thùy phía trong nhỏ, hình tam giác, nhọn. Mặt dưới lá phủ lông như bông hoặc nhẵn không có lông.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel H (dùng dung dịch *natri carboxymethylcellulose* 0,2 % đến 0,5 % để tráng bản mỏng).

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - butanol - acid formic - nước* (10 : 1 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 95 % (TT)*, ngâm nóng trong 30 phút, lọc, cô bốc hơi dịch lọc tới khô. Hòa tan cần trong 1 ml *ethanol 95 % (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,5 mg icariin trong 1 ml *ethanol 95 % (TT)* làm dung dịch đối chiếu hoặc dùng 0,5 g bột Dâm dương hoắc (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ L mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký xong, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu (màu đỏ thẫm) và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu icariin, khi phun *dung dịch nhôm clorid 10 % trong ethanol (TT)* vết màu đỏ thẫm sẽ chuyển sang màu da cam hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu Dâm dương hoắc.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 15,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Hai mùa hạ, thu, cây mọc xum xuê, thu hái về, loại bỏ thân to và các tạp chất, phơi ngoài trời hoặc phơi khô trong bóng râm.

Bào chế

Dâm dương hoắc khô, loại bỏ tạp chất, tách riêng lấy lá, phun nước cho hơi mềm, thái thành sợi nhỏ, phơi khô.

Dâm dương hoắc chích mỡ dê: Dùng lửa vãn (lửa nhỏ), cho Dâm dương hoắc đã thái sợi vào sao, đồng thời vẩy mỡ dê đến khi các sợi sáng bóng đều, lấy ra để nguội, cứ 100 kg Dâm dương hoắc dùng 20 kg nước mỡ dê.

Bảo quản

Để nơi khô thoáng tránh vụn nát, mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Tân, ôn. Qui vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Bổ thận dương, cường cân cốt, trừ phong thấp. Chủ trị: Liệt dương, hoạt tinh, yếu chân tay, phong thấp đầu tê bại, co rút cơ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 15 g. Dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các thuốc khác.

Kiêng kỵ

Cương dương, mộng tinh, sung huyết não, mắt ngủ không nên dùng.

DẦU (Cành)

Ramulus Mori albae

Tang chi

Cành non đã phơi hay sấy khô của cây Dầu tằm (*Morus alba* L.), họ Dầu tằm (Moraceae).

Mô tả

Cành hình trụ dài, đôi khi có nhánh, dài ngắn không đều nhau, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu vàng xám hoặc vàng nâu, có nhiều lỗ vỏ màu nâu nhạt và các nếp vân dọc nhỏ, có những vết sẹo cuống lá gần hình bán nguyệt màu trắng xám và những chồi nách nhỏ màu nâu vàng. Chất cứng, dai, chắc, khó bẻ gãy, mặt gãy có xơ, màu trắng ngà. Lát cắt dày 0,2 cm đến 0,5 cm, thấy phân rõ 3 phần: phần vỏ hơi mỏng, phần giữa là gỗ trắng ngà, phần tâm có túy nhỏ và mềm màu trắng hoặc vàng nhạt, có hình tia. Hơi có mùi, vị nhạt.

Vi phẫu

Lớp bần gồm một hoặc vài hàng tế bào đều đặn, gần như hình chữ nhật, đôi khi có lỗ vỏ. Mô mềm vỏ tương đối mỏng, khoảng 6 đến 8 hàng tế bào đa giác dẹt có chứa các tinh thể calci oxalat hình khối. Các đám sợi hoặc mô cứng chỗ dày chỗ mỏng bao bọc gần như liên tục xung quanh vòng libe. Vòng libe liên tục. Tầng phát sinh libe-gỗ. Gỗ xếp thành một vòng liên tục, mạch gỗ to, cang vào trong cang nhỏ dần. Mô mềm gỗ cấu tạo bởi những tế bào nhỏ, xếp đều đặn. Mô mềm ruột gồm các tế bào gần tròn, to, thành mỏng.

Bột

Màu vàng xám nhạt, mùi nhẹ, vị nhạt. Soi kính hiển vi thấy: Rất nhiều sợi màu vàng nhạt hoặc không màu, đơn lẻ hay tập trung thành bó, thành dày 5 μ m đến 15 μ m, khoang hẹp. Tế bào mô cứng màu vàng nhạt, hình gần tròn hoặc hình chữ nhật, đường kính 15 μ m đến 40 μ m, thành dày 5 μ m đến 20 μ m, khoang hẹp. Các tế bào mô mềm tụ họp thành đám hoặc rải rác. Tinh thể calci oxalat hình khối dài 5 μ m đến 12 μ m. Các mảnh mạch mạng, mạch điểm. Các tế bào bần màu vàng đậm, rải rác hay tập trung thành đám. Rải rác có các hạt tinh bột.

Định tính

A. Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun sôi, lọc. Dịch lọc có màu xanh lá cây. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid (TT)*, xuất hiện tủa màu nâu xám.

B. Lấy 5 g bột dược liệu, trộn đều với 3 ml *dung dịch amoniac (TT)*, thêm 30 ml *cloroform (TT)*, lắc. Để yên trong 5 giờ, lọc. Dịch lọc cho vào bình gạn, thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric (TT)*, lắc, để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, gạn lấy 1 ml dịch chiết acid, thêm 1 giọt *dung dịch acid picric (TT)*, xuất hiện tủa vàng nhạt.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 3,0 % (Phụ lục 12.10) tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng, dùng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào cuối mùa xuân, đầu mùa hạ, chọn các cành dâu non có kích thước quy định, bỏ hết lá, phơi hoặc sấy khô hoặc thái vát lúc còn tươi, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Nếu còn nguyên cành dài, bỏ tạp chất, rửa sạch, tắm nước, ủ mềm, cắt lát dày 0,2 cm đến 0,5 cm, phơi nắng cho khô.

Tang chi sao: Lấy dược liệu đã thái lát, sao lửa nhỏ đến khi hơi vàng, lấy ra để nguội.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Vị khô, bình. Vào kinh can.

Công năng, chủ trị

Trừ phong thấp, thông lợi khớp. Chủ trị: Đau nhức cơ khớp, chân tay co duỗi khó khăn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc.

DẦU (Lá)***Folium Mori albae*****Tang diệp**

Lá phơi hay sấy khô của cây Dâu tằm (*Morus alba* L.), họ Dâu tằm (Moraceae).

Mô tả

Lá nhẵn nhéo, dễ gãy vụn. Lá nguyên hình trứng, hình trứng rộng, dài 8 cm đến 15 cm, rộng 7 cm đến 13 cm, có cuống; đầu lá nhọn, gốc lá cụt, tròn hay hình tim, mép có răng cưa, đôi khi chia thùy không đều. Mặt trên lá có màu lục vàng hoặc nâu vàng nhạt, đôi khi có nốt nhỏ nhô lên. Mặt dưới lá có màu nhạt, nổi rõ các gân lớn chạy từ cuống lá và nhiều gân nhỏ hình mạng lưới, có lông tơ mịn rải rác trên gân lá. Chát giòn. Hơi có mùi, vị nhạt, hơi chát, đắng.

Vị phẫu

Biểu bì trên gồm tế bào khá lớn, có lông chứa nang thạch, đơn bào hoặc đa bào. Biểu bì dưới tế bào nhỏ

hơn, có ít lông chứa nang thạch, nhưng nhiều lỗ khí hơn. Trong gân chính, dưới biểu bì có 2 đám mô dày, đám dưới dày và rộng hơn. Mô mềm chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai hay hình phiến. Giữa gân lá có 1 hoặc 2 bó libe gỗ, xung quanh libe có sợi. Phiến lá gồm 1 hàng mô giậu, chứa diệp lục, mô khuyết có tế bào hình tròn hay nhiều cạnh, chứa tinh thể calci oxalat.

Bột

Màu lục vàng hay nâu vàng. Soi kính hiển vi thấy: Biểu bì trên có những tế bào phình to chứa nang thạch đường kính 47 µm đến 77 µm. Lỗ khí ở biểu bì dưới thuộc kiểu hỗn bào, được bao quanh bởi 4 tế bào đến 6 tế bào không đều. Lông che chở đơn bào, dài 50 µm đến 230 µm. Cụm tinh thể calci oxalat đường kính 5 µm đến 16 µm; thường gặp dạng tinh thể calci oxalat hình lăng trụ.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Dung lớp trên của hỗn hợp dung môi gồm *toluen* - *ethyl acetat* - *acid formic* (5 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 30 ml *ether dầu hòa* (60 °C đến 90 °C) (TT), đun hồi lưu trong 30 phút, loại bỏ lớp ether dầu hòa, lấy bã bay hơi hết dung môi đến khô, thêm 30 ml *ethanol* 96 % (TT), lắc siêu âm trong 20 phút, lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan căn trong 10 ml nước nóng, đun trên cách thủy 60 °C, khuấy kỹ để hòa tan, lọc và bốc hơi dịch lọc tới khô, hòa căn trong 1 ml *methanol* (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột lá Dâu (mẫu chuẩn), tiến hành chiết tương tự như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình được bão hòa trước 10 phút bằng pha động đến khi dung môi chạy được khoảng 8 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 3 g, 105 °C, 5 h).

Tro không tan trong acid

Không quá 4,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 9.4).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* (TT) làm dung môi.

Chế biến

Sau khi mới có sương (vào mùa thu), thu hái lá bánh tẻ, loại bỏ lá vàng úa và tạp chất, rửa sạch đem phơi trong bóng râm hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế

Dược liệu khô, loại bỏ tạp chất, vò nát, bỏ cuống lá, rây bỏ vụn nhỏ.

Bảo quản

Đề nơi khô, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Cam, khô, hàn. Vào các kinh phế, can.

Công năng, chủ trị

Sơ tán phong nhiệt, thanh phế, nhuận táo, thanh can, minh mục. Chủ trị: Cảm mạo phong nhiệt, phế nhiệt ho ráo, chóng mặt, nhức đầu hoa mắt, mắt sây sầm, đau mắt đỏ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 5 g đến 12 g. Dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Bệnh hư hàn thì không nên dùng.

DẦU (Quả)***Fructus Mori albae*****Tang thầm**

Quả kép chín đỏ, phơi khô của cây Dầu tằm (*Morus alba* L.), họ Dầu tằm (Moraceae).

Mô tả

Quả kép hình trụ do nhiều quả bé tạo thành, dài 1 cm đến 2 cm, đường kính 5 mm đến 8 mm, màu nâu vàng nhạt đến đỏ nâu nhạt hoặc tím thẫm, cuống quả ngắn. Quả bé hình trứng, hơi dẹt, dài 2 mm, rộng 1 mm, có bao hoa nạc xẻ 4. Vị hơi chua và ngọt.

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 85 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Tháng 4 đến 6, quả chín có màu đỏ, hái về, rửa sạch, phơi khô hoặc sau khi đồ qua rồi phơi khô.

Bảo quản

Đề nơi khô, thoáng gió, phòng mốc.

Tính vị, quy kinh

Cam, toan, ôn. Vào các kinh tâm, can, thận.

Công năng, chủ trị

Bổ huyết, tư âm, sinh tân, nhuận táo. Chủ trị: Chóng mặt, ù tai, tim đập nhanh, mất ngủ, râu, tóc sớm bạc, tân dịch thương tổn, miệng khát, nội nhiệt tiêu khát (đái tháo), táo bón.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g. Dạng thuốc sắc hay ngâm rượu.

DẦU (Vỏ rễ)***Cortex Mori albae radices*****Tang bạch bì, Vỏ rễ dâu**

Vỏ rễ đã cạo lớp bần, phơi hay sấy khô của cây Dầu tằm (*Morus alba* L.), họ Dầu tằm (Moraceae).

Mô tả

Mảnh vỏ rễ hình ống, hình máng hai mép cuộn lại hoặc mảnh dẹt phẳng, hoặc quấn queo, dài rộng khác nhau, dày 1 mm đến 4 mm; mặt ngoài màu trắng hoặc vàng nhạt, tương đối nhẵn, đôi chỗ còn sót lại mảnh bần màu vàng hoặc màu vàng nâu; mặt trong màu vàng nhạt hay vàng xám, có nếp nhăn dọc nhỏ. Chất nhẹ và dai, có sợi chắc, khó bẻ ngang, nhưng dễ tách dọc thành dải nhỏ. Mùi nhẹ, vị hơi ngọt.

Vi phẫu

Mặt cắt ngang gồm: Libe rộng, có 2 đến 4 hàng tế bào. Ống nhựa mù rải rác; sợi rải rác ở dạng đơn lẻ hoặc tụ lại thành bó, thành không hóa gỗ hoặc hơi hóa gỗ. Tế bào mô mềm chứa hạt tinh bột, một số có chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Các đám mô cứng lẫn với các tế bào đá rải rác trong vỏ rễ già, đa số các tế bào này có chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ.

Bột

Màu vàng xám nhạt, mùi thơm nhẹ. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều sợi, đa phần bị gãy, đường kính 13 µm đến 26 µm, thành dày, không hóa gỗ hoặc hơi hóa gỗ. Tinh thể calci oxalat hình khối, đường kính 11 µm đến 32 µm. Tế bào mô cứng hình gần tròn, hình chữ nhật hoặc không đều, đường kính 22 µm đến 52 µm, thành dày hoặc rất dày, có ống và lỗ trao đổi rõ, một số có chứa tinh thể calci oxalat hình khối. Nhiều hạt tinh bột, hình gần tròn, đường kính 4 µm đến 16 µm nằm rải rác hoặc tập trung thành đám. Mảnh bần còn sót lại màu vàng, có các tế bào hình đa giác.

Định tính

Lấy 1 g bột vỏ rễ dâu, thêm 20 ml *n-hexan* (TT), đun hồi lưu 15 phút trên bếp cách thủy, lọc. Bóc hơi dịch lọc đến khô, hòa tan cần trong 10 ml *cloroform* (TT). Lấy 0,5 ml dung dịch này vào ống nghiệm, thêm 0,5 ml *anhydrid acetic* (TT), thêm từ từ thận trọng 0,5 ml *acid sulfuric đặc* (TT) để có 2 lớp dịch, màu nâu đỏ xuất hiện giữa 2 lớp.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch vào cuối mùa thu, khi lá rụng, đến đầu mùa xuân, trước khi cây nảy mầm, đào lấy rễ dưới đất, cạo bỏ hết lớp vỏ ngoài thô màu nâu vàng, rửa sạch, bỏ dọc, bóc lấy vỏ rễ màu trắng ngà, phơi hay sấy khô.

Bào chế

Vỏ rễ khô, rửa sạch, ủ hơi mềm, tước sợi, phơi hoặc sấy khô.

Mật tang bạch bì (Chế mật): Lấy sợi đã thái, cho vào mật ong đã canh, trộn đều, ủ cho ngấm, rồi cho vào nồi sao nhỏ lửa cho đến khi có màu vàng và sờ không dính tay, lấy ra để nguội. Cứ 10 kg vỏ rễ dâu, dùng 2 kg mật ong đã canh.

Bảo quản

Để nơi khô thoáng, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị

Thanh phế, bình suyễn, lợi thủy tiêu thũng. Chủ trị: Phế nhiệt ho suyễn, thủy thũng đầy trướng, tiểu tiện ít, cơ và da mặt, mắt phù thũng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 đến 12 g. Dạng thuốc sắc.

DẦU MÙ U***Oleum Calophylli inophylli***

Dầu ép từ hạt của cây Mù u (*Calophyllum inophyllum* L.) họ Bứa (Clusiaceae) đã được tinh chế loại bỏ phần “nhựa”.

Mô tả

Dầu lỏng sánh, màu vàng tới vàng đậm, mùi thơm hắc đặc trưng.

Tỉ trọng tương đối

0,9135 đến 0,9155 (Phụ lục 6.5, phương pháp dùng picnomet).

Chỉ số acid

1 đến 10 (Phụ lục 7.2).

Chỉ số xà phòng

218 đến 228 (Phụ lục 7.7).

Định tính

A. Lấy 0,5 ml dầu, thêm vào 2 ml *ether ethylic* (TT), lắc đều cho tan. Thêm 2 ml *ethanol* 95 % (TT) lắc đều cho tan. Chia đều dung dịch vào 2 ống nghiệm.

Ống 1: Thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch sắt III clorid* 5 % trong *ethanol* (TT), lắc đều, dung dịch có màu xanh dương đậm.

Ống 2: Thêm 0,5 ml *dung dịch kali hydroxyd* 0,5 N trong *ethanol* (TT), lắc đều, thêm vài giọt *thuốc thử diazo* (TT). Dung dịch có màu đỏ cam.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel* G.

Dung môi khai triển: *Benzen - ethyl acetat* (8 : 2)

Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g dầu trong 0,5 ml *ether ethylic* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,1 g dầu Mù u chuẩn trong 0,5 ml *ether ethylic* (TT).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin - sulfuric* (TT). Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong khoảng 5 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Bảo quản

Giữ trong chai đầy, đậy nắp kín. Bảo quản nơi mát, tránh ánh sáng.

DÂY ĐAU XƯƠNG (Thân)***Caulis Tinosporae sinensis***

Thân đã thái phiến phơi hay sấy khô của cây Dây đau xương [*Tinospora sinensis* (Lour.) Merr.], họ Tiết Dê (Menispermaceae).

Mô tả

Thân đã thái thành phiến, khô, dày mỏng không đều, thường dày 0,3 cm đến 0,5 cm, đường kính 0,5 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu nâu xám hoặc xanh xám. Lớp bản mỏng, khi khô nhăn nheo dễ bong. Mặt ngoài nhiều lỗ vỏ nổi rõ. Mặt cắt ngang màu trắng ngà hoặc vàng nhạt. Mô mềm vỏ mỏng. Phần gỗ rộng xoè ra thành hình nan hoa bánh xe, tia ruột rõ. Phần ruột ở giữa tròn nhỏ.

Vĩ phẫu

Thân cây già có lớp bản không dày lắm, có lỗ vỏ nổi rõ. Mô mềm vỏ ít phát triển, thỉnh thoảng có những tế bào to chứa chất nhựa. Trong mô mềm vỏ thân cây non có những đám sợi, ở thân cây già có những đám mô cứng, nhỏ, kèm theo nhiều tinh thể calci oxalat hình chữ nhật hoặc hình quả trám. Phía ngoài khối libe-gỗ có một vòng mô cứng ở thân non, vòng này liên tục, ở thân già thì chia thành các cung úp lên từng bó libe-gỗ. Libe-gỗ xếp thành từng bó riêng biệt ngăn cách bởi tia ruột. Trước bó libe-gỗ, sau cung mô cứng có một đám tế bào thành mỏng. Libe là những tế bào thành mỏng xếp thành từng dãy xuyên tâm. Tầng phát sinh libe-gỗ uốn lượn qua các bó libe-gỗ. Gỗ cấp 2 có

từng mạch to nằm rải rác trong mô mềm gỗ. Tia ruột rộng ở thân già, hẹp ở thân non, tế bào dài theo hướng xuyên tâm. Xen kẽ trong mô mềm ruột có những đám mô cứng nhỏ và tế bào mang tinh thể calci oxalat. Nhiều hạt tinh bột còn lại trên vi phẫu.

Bột

Màu xám, vị hơi đắng, hạt tinh bột có nhiều dạng thường hình trứng. Tinh thể calci oxalat hình khối, hình cầu gai. Tế bào mô cứng nhiều hình dạng vách dày, có ống trao đổi rõ. Mạch mạch điểm, mạch mạng.

Định tính

Lấy 3 g bột dược liệu, cho vào bình có nút mài dung tích 50 ml đến 100 ml, thêm 1 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, trộn đều. Thêm 25 ml *cloroform (TT)* và lắc nhẹ trong 10 phút, để yên một giờ. Lọc dịch chiết qua giấy lọc gấp nếp vào một bình gạn rồi lắc với 5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Lấy phần dịch acid chia vào 3 ống nghiệm;

Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng đục.

Ống 2: Thêm 2 giọt đến 3 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa đỏ nâu.

Ống 3: Thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch acid picric 1 % (TT)*, xuất hiện tủa màu vàng.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ đen thối: Không quá 0,5 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tỉ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến

Thu hái quanh năm, cắt lấy phần thân già, phân loại to nhỏ, thái lát mỏng, phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Nơi khô, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, lương. Quy vào kinh can.

Công năng, chủ trị

Khu phong trừ thấp, thư cân hoạt lạc. Chủ trị: Phong thấp tê bại, đau nhức cơ khớp.

Dùng ngoài chữa đẹn dấp, sang chấn, rắn cắn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 20 g, dạng thuốc sắc hay ngâm rượu để uống hay dùng ngoài.

DIỄN HỒ SÁCH (Rễ củ)

Tuber Corydalis

Huyền hồ sách, Nguyên hồ

Rễ củ đã chế biến khô của cây Diên hồ sách [*Corydalis yanhusuo* (Y. H. Chou & Chun C. Hsu) W. T. Wang], họ Cải cần (Fumariaceae).

Mô tả

Rễ củ hình cầu dẹt không đều, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu vàng hay vàng nâu, có vân nhăn hình mạng lưới không đều. Đỉnh có vết sẹo thân hơi lõm, đáy thường lõm lên. Chất cứng, giòn. Mặt cắt ngang màu vàng, cứng như sừng, sáng bóng như sáp. Mùi nhẹ, vị đắng.

Bột

Màu lục vàng, hạt tinh bột đã hồ hóa thành từng khối màu vàng nhạt hoặc không màu. Mô cứng của nội bì màu vàng lục với các tế bào hình nhiều cạnh, gần vuông hoặc bầu dục, thuôn dài. Thành tế bào hơi lượn sóng, hóa gỗ, có các lỗ nhỏ dày đặc. Tế bào đá màu vàng nhạt, hình gần tròn hay thuôn dài, đường kính tới 60 µm, thành tương đối dày có các lỗ nhỏ dày đặc. Mạch xoắn đường kính 16 µm đến 32 µm.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*, có dùng dung dịch *natri hydroxyd (TT)* 1 % để tráng bản mỏng.

Dung môi khai triển: *n-Hexan - cloroform - methanol* (7,5 : 4 : 1).

Dung dịch thử: Cho 1 g bột dược liệu vào một bình cầu, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 giờ. Để nguội, lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô trên cách thủy. Hòa tan cần trong 10 ml *nước*, kiểm hóa bằng *amoniac đậm đặc (TT)*, chiết bằng *ether (TT)* 3 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch chiết ether, bốc hơi đến cạn khô trên cách thủy. Hòa tan cần trong 1 ml *methanol (TT)* được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan tetrahydropalmin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml. Nếu không có tetrahydropalmin có thể dùng 1 g bột Diên hồ sách (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, để khô bản mỏng ngoài không khí. Hiện màu bằng *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và giá trị R_f với vết tetrahydropalmin hoặc các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (khi dùng Diên hồ sách mẫu chuẩn để chuẩn bị dung dịch đối chiếu).

Độ ẩm

Không quá 15 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 13,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 50 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào đầu mùa hạ khi cây khô héo. Đào lấy rễ, loại bỏ rễ con, thân và lá, rửa sạch, luộc đến khi cắt ngang không còn lõi màu trắng và phơi cho khô.

Bào chế

Diên hồ sách sống: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch ủ mềm, thái phiến phơi khô hoặc khi dùng giã nát.

Thỏ Diên hồ sách (chế dấm) - sao với dấm: Cho dấm vào diên hồ sách sạch, trộn đều, ủ cho thấm đều dấm, cho vào chảo, sao nhỏ lửa đến khô, thái lát hoặc khi dùng giã nát. Hoặc luộc với dấm: luộc với dấm nhỏ lửa cho đến khi dấm thấm hết vào thuốc, thái phiến dày, phơi khô, hoặc khi dùng giã nát. Dùng 2 lít dấm cho 10 kg dược liệu.

Bảo quản

Nơi khô ráo, tránh mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Tân, khô, ôn. Vào các kinh Can, phế, tỳ.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết, hành khí, chỉ thống. Chủ trị: Đau ngực, sườn, thượng vị, vô kinh, bế kinh, ứ huyết sau khi sinh, sưng đau do sang chấn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g hoặc uống mỗi lần từ 1,5 g đến 3 g dạng bột. Thường phối hợp với các dạng thuốc khác.

Kiêng kỵ

Không dùng cho phụ nữ có thai, người huyết hư, phụ nữ rối loạn kinh nguyệt.

DIẾP CÁ***Herba Houttuyniae cordatae*****Ngư tinh thảo**

Bộ phận trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Diệp cá (*Houttuynia cordata* Thunb.), họ Lá giáp (*Saururaceae*).

Mô tả

Thân hình trụ tròn hay dẹt, cong, dài 20 cm đến 35 cm, đường kính 2 mm đến 3 mm. Mặt ngoài màu vàng nâu nhạt, có vân dọc nhỏ và có mấu rõ. Các mấu ở gốc

thân còn vết tích của rễ. Chất giòn, dễ gãy. Lá mọc so le, hình tim, đầu lá nhọn, phiến lá gấp cuộn lại, nhàu nát, cuống dính ở gốc lá dài chừng 2 cm đến 3 cm, gốc cuống rộng thành bẹ mỏng. Mặt trên lá màu lục, vàng sẫm đến nâu sẫm, mặt dưới màu lục xám đến nâu xám. Cụm hoa là một bông dài 1 cm đến 3 cm, ở đầu cành, màu nâu vàng nhạt, cuống dài 3 cm. Mùi tanh cá. Vị hơi chát, se.

Vị phẫu

Biểu bì trên và dưới của lá gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp đều đặn, mang lông tiết đầu đơn bào, chân đa bào và lông che chở đa bào có xen lẫn tế bào tiết màu vàng ở mặt trên gân lá. Ở mặt dưới phiến lá có lỗ khí. Hạ bì trên từ phiến lá chạy qua gân giữa gồm một lớp tế bào to, thành mỏng. Hạ bì dưới tế bào bé hơn, bị ngăn cách bởi một số tế bào mô mềm ở giữa gân lá. Mô mềm có tế bào thành mỏng và ít khuyết nhỏ. Bó libe-gỗ ở giữa gân lá gồm có bó gỗ ở trên, bó libe ở dưới. Mô mềm phiến lá có những khuyết nhỏ và bó libe gỗ nhỏ.

Bột

Màu lục vàng, vị hơi mặn, hơi cay, mùi tanh.

Mảnh biểu bì trên và biểu bì dưới gồm tế bào hình nhiều cạnh thành hơi dày, mang tế bào tiết. Biểu bì dưới có lỗ khí, tế bào tiết tròn, chứa tinh dầu màu vàng nhạt hay vàng nâu, bề mặt có vân, xung quanh có 5 tế bào đến 6 tế bào xếp tỏa ra. Lỗ khí có 4 tế bào đến 5 tế bào kèm nhỏ hơn. Lông che chở đa bào và tế bào tiết. Hạt tinh bột hình trứng, có khi tròn hay hình chuông dài 40 μ m, rộng chừng 36 μ m. Mạch thân gồm tế bào hình chữ nhật thành mỏng và tế bào tiết. Mạch mạch xoắn.

Định tính

A. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại, thân và bột lá phát quang màu nâu hung.

B. Cho 1 g bột dược liệu vào ống nghiệm, dùng thìa thủy tinh ấn chặt xuống, thêm vài giọt *dung dịch fuchsin đã khử màu*, để làm ướt bột ở phía trên, để yên một lúc. Nhìn qua ống nghiệm thấy bột ướt có màu hồng hoặc màu tím đỏ.

Cách pha dung dịch fuchsin đã khử màu: Hòa tan 0,2 g *fuchsin base* (TT) trong 100 ml nước nóng, thêm 20 ml dung dịch *natri sulfat* (TT) 10 %, 2 ml acid hydrochloric và pha loãng bằng nước đến vừa đủ 200 ml, tiếp tục thêm 0,1 g *than hoạt tính* (TT), khuấy và lọc nhanh. Để yên ít nhất 1 giờ. Dung dịch chỉ pha khi dùng.

C. Lấy 1 g bột dược liệu thêm 10 ml *ethanol* (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 10 phút, lọc. Lấy 2 ml dịch lọc, thêm ít bột *magnesi* (TT) và 3 giọt *acid hydrochloric* (TT), đun nóng trên cách thủy, sẽ xuất hiện màu đỏ.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Thân rễ và tạp chất khác không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 3,15 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 11,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi.

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dược liệu phải chứa ít nhất 0,08 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Có thể thu hái lá quanh năm, nhưng tốt nhất là thu hái lá vào mùa hạ, khi cây xanh tốt có nhiều cụm quả. Lúc trời khô ráo cắt lấy phần trên mặt đất, loại bỏ gốc rễ, phơi hoặc sấy khô nhẹ.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt đoạn, phơi khô.

Bảo quản

Nơi khô mát.

Tính vị, qui kinh

Vị cay, chua, mùi tanh, tính mát. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, bài nùng, tiêu thũng. Chủ trị: Phế ung, phế nhiệt, thực nhiệt lý, nhiệt lâm, mụn nhọt, đau mắt, trĩ, kinh nguyệt không đều, nhiễm trực khuẩn mủ xanh.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 15 g đến 25 g dược liệu khô sắc nhanh; hoặc từ 30 g đến 50 g dược liệu tươi sắc hoặc giã vắt lấy nước uống.

Dùng ngoài lượng thích hợp, giã nát đắp tại chỗ hoặc sắc lấy nước để xông hoặc rửa vết thương.

DIỆP HẠ CHÂU

Herba Phyllanthi urinariae

Chó đẻ răng cưa

Toàn cây tươi hoặc đã phơi sấy khô của cây Chó đẻ răng cưa (*Phyllanthus urinaria* L.), họ Thầu dầu (Euphorbiaceae).

Mô tả

Cây cao khoảng 30 cm, thân gần như nhẵn, mang nhiều cành nhỏ màu hơi tím. Lá mọc so le xếp thành

hai dãy xít nhau trông như lá kép lông chim. Phiến lá thuần bầu dục hay trái xoan ngược, dài 5 mm đến 15 mm, đầu nhọn hay hơi tù, màu xanh sẫm ở mặt trên, xanh nhạt ở mặt dưới, không cuống hay có cuống rất ngắn. Hoa màu trắng mọc ở dưới lá, đơn tính, hoa đực hoa cái cùng gốc, hoa đực ở đầu cành, hoa cái ở dưới. Hoa không có cuống hoặc có cuống rất ngắn. Quả nang hình cầu, đường kính có thể tới 2 mm, sần sùi, nằm sát dưới lá. Quả có sáu hạt. Hạt hình tam giác màu nâu nhạt, lưng hạt có vân ngang.

Vi phẫu

Thân: Vi phẫu có thiết diện tròn, có 2 đến 3 góc lồi không đều nhau. Biểu bì gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật, dẹt, nằm ngang không đều nhau; mô mềm vỏ gồm những tế bào hình tròn hay hình bầu dục xếp ngang, không đều, xếp chứa những khe nhỏ, có chứa ít tinh bột. Một vài tinh thể calci oxalat hình khối trong mô mềm tủy.

Gân lá: Gân giữa mặt dưới lồi nhiều, mặt trên hơi lồi. Không có mô mềm giậu như *P. amarus*. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai rất nhiều, tập trung ở vùng mô mềm ngay dưới sợi.

Phiến lá: Biểu bì trên là những tế bào hình chữ nhật dẹt. Lỗ khí kiểu song bào. Lông che chở đa bào (2 tế bào), ngắn, vách dày ở sát mép lá.

Bột

Bột màu xanh, có vị hơi đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì gồm những tế bào thành mỏng hình chữ nhật. Lông che chở đa bào. Mảnh mô mềm gồm những tế bào đa giác thành mỏng. Một vài đám tế bào mô mềm đang phân hóa thành mô dày (thành hơi dày lên ở góc). Bó sợi dài. Mảnh mạch chằm và mạch xoắn. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Định tính

A. Lấy 5 g dược liệu khô, tán nhỏ, thêm 50 ml *ethanol* 90 % (TT), lắc đều rồi đun hồi lưu trong cách thủy 30 phút. Lọc, cô cách thủy còn 3 ml đến 4 ml. Chia đôi dịch lọc vào 2 ống nghiệm để làm các phản ứng sau đây:

Ống 1: Thêm 4 giọt đến 5 giọt *acid hydrochloric* (TT), rồi thêm vào một ít bột *magnesi* (TT), xuất hiện màu đỏ.

Ống 2: Thêm 3 giọt đến 4 giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 9 % (TT), xuất hiện màu xanh tím.

B. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *nước*, đun sôi, lọc. Lấy 2 ml đến 3 ml dịch lọc đã để nguội, thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch gelatin* 2 % (TT), xuất hiện tủa bông.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol* (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu vào bình nón nút mài, thấm ẩm bột dược liệu bằng 5 ml *amoniac đậm*

đặc (TT), để yên 30 phút. Thêm 50 ml *ethanol* 96 % (TT), đun trong cách thủy 30 phút. Lấy dịch chiết *ethanol* cô đến cạn, hòa tan căn bằng *dung dịch acid sulfuric* 3 % (TT) (2 lần, mỗi lần 30 ml), lọc. Kiểm hóa dịch lọc bằng *amoniac đậm đặc (TT)* đến pH 9 đến 10, lắc *dung dịch* này với *cloroform (TT)* (2 lần, mỗi lần 20 ml). Gộp dịch chiết *cloroform*, lọc, bay hơi trên cách thủy đến còn 2 ml, dùng làm *dung dịch thử*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Diệp hạ châu (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như đối với *dung dịch thử*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi *dung dịch* trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Sắc ký đồ của *dung dịch thử* phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của *dung dịch đối chiếu*.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 3,15 mm: Không quá 8,0 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 7,0 % tính theo *dược liệu* khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 96 % (TT) làm *dung môi*.

Chế biến

Thu hái quanh năm nhưng tốt nhất là vào mùa hè-thu, đem về rửa sạch dùng tươi. Có thể cắt từng đoạn phơi khô; hoặc rửa sạch cả cây, phơi gần khô rồi bó lại, phơi âm can tiếp đến khô, khi dùng loại bỏ tạp chất, rửa qua nước, cắt đoạn 5 cm đến 6 cm phơi khô. Có thể lấy lá ép lại thành bánh.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh ẩm, mốc, mọt.

Tính vị, qui kinh

Cam, khô, lương. Vào các kinh can, phế.

Công năng, chủ trị

Tiêu độc, hoạt huyết, lợi mật, thanh can sáng mắt, lợi thủy. Dùng khi viêm gan hoàng đản, viêm họng, mụn nhọt, viêm da thần kinh, chàm, viêm thận, phù thũng, sỏi tiết niệu, viêm ruột, tiêu chảy.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 20 g *dược liệu* khô, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai không dùng.

DIỆP HẠ CHÂU ĐẰNG

Herba Phyllanthi amari

Chó đẻ răng cưa thân xanh

Toàn cây tươi hoặc đã phơi hay sấy khô của cây Diệp hạ châu đắng (*Phyllanthus amarus* Schum. et Thonn.), họ Thầu dầu (*Euphorbiaceae*).

Mô tả

Cây cao 40 cm đến 80 cm, thân tròn, bóng, màu xanh, phân nhánh đều, nhiều. Lá mọc so le xếp thành 2 dãy xít nhau trông như lá kép hình lông chim. Phiến lá hình bầu dục, dài từ 5 mm đến 10 mm, rộng 3 mm đến 6 mm, màu xanh sẫm ở mặt trên, màu xanh nhạt ở mặt dưới. Hoa đực và hoa cái mọc thành cụm. Hoa đực có cuống ngắn 1 mm đến 2 mm, dài 5, có tuyến mật, nhị 3, chỉ nhị dính nhau. Hoa cái có cuống dài hơn hoa đực. Quả nang, nhẵn, hình cầu, đường kính 1,8 mm đến 2 mm, có đài tồn tại. Chứa 6 hạt hình tam giác, đường kính 1 mm, hạt có sọc dọc ở lưng.

Vi phẫu

Thân: Vi phẫu có thiết diện tròn, không có góc lồi. Từ ngoài vào trong gồm lớp cutin mỏng có răng cưa, đôi khi tạo thành những u lồi nhỏ. Biểu bì gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật nằm ngang không đều nhau. Mô dày gồm 1 đến 2 lớp tế bào hình tròn hay hình bầu dục. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình tròn hay hình bầu dục không đều, xếp chừa những khe nhỏ, có chứa ít tinh bột và tinh thể calci oxalat hình khối. Trụ bì gồm 3 đến 5 lớp tế bào, hóa mô cứng thành những cụm rời nhau, mỗi cụm gồm tế bào mô cứng và sợi. Libe và gỗ xếp thành vòng liên tục. Mô mềm tủy gồm những tế bào hình đa giác gần như tròn, xếp chừa những khe nhỏ, có rất ít tinh bột, không có tinh thể calci oxalat.

Gân lá: Gân giữa mặt dưới lồi rõ, mặt trên gần như phẳng, biểu bì trên là một lớp tế bào hình chữ nhật và gần đều nhau, lớp cutin mỏng có răng cưa rất nhỏ. Mô dày tròn ít rõ. Dưới mô dày có một lớp tế bào mô giậu. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn, xếp chừa những khe nhỏ. Libe và gỗ cấu tạo cấp 1 xếp thành hình cung, gỗ ở trên, libe ở dưới. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai trong một vài mô mềm ngay dưới libe.

Phiến lá: Biểu bì trên là những tế bào hình bầu dục không đều nhau, lớp cutin mỏng, có răng cưa rất nông. Tế bào biểu bì dưới có hình chữ nhật nằm ngang hơi dẹt hơn tế bào biểu bì trên. Lỗ khí có nhiều ở biểu bì dưới và ít hơn ở biểu bì trên, lỗ khí kiểu hỗn bào hay dị bào, ít song bào với 2 tế bào bạn không đều nhau. Chỉ số lỗ khí $X \geq 20$. Mô mềm giậu là một lớp tế bào, chiếm gần nửa chiều dày phiến lá. Mô mềm khuyết gồm những tế bào không đều, vách uốn lượn nhiều, xếp chừa những khuyết to. Một vài tinh thể calci oxalat hình lăng trụ trong mô mềm giậu.

Bột

Bột màu xanh, vị rất đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì mang lỗ khí, bó sợi dài, mảnh mô mềm tế bào đa giác, thành mỏng, mảnh mạch vạch, mạch xoắn.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ethanol* 90 % (TT), lắc đều, đun hồi lưu trong cách thủy 30 phút. Lọc. Cô dịch lọc còn khoảng 4 ml, chia đều vào 2 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm 4 giọt đến 5 giọt *acid hydrocloric* (TT) và một ít bột *magnesi* (TT), đặt trong cách thủy vài phút, dung dịch chuyển từ màu vàng sang màu hồng.

Ống 2: Thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch sắt* (III) *clorid* 5 % (TT), xuất hiện màu xanh thẫm.

B. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml nước, đun sôi trong vài phút rồi lọc. Lấy 2 ml dịch lọc đã nguội thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch gelatin* 1 % (TT), xuất hiện tủa bông trắng.

C. Lấy 2 g bột dược liệu cho vào bình nón có nút mài, thấm ẩm bột dược liệu bằng *dung dịch amoni hydroxyd* 10 % (TT), sau 15 phút thêm 10 ml *cloroform* (TT). Lắc khoảng 15 phút rồi để qua đêm. Lọc qua giấy lọc vào bình gạn, thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric* 10 % (TT), lắc 2 đến 3 phút, gạn lấy lớp acid vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm 2 giọt đến 3 giọt *thuốc thử Mayer* (TT), xuất hiện tủa vàng nhạt.

Ống 2: Thêm 2 giọt đến 3 giọt *thuốc thử Dragendorff* (TT), xuất hiện tủa đỏ cam.

Ống 3: Thêm 2 giọt đến 3 giọt *thuốc thử Bouchardat* (TT), xuất hiện tủa nâu.

D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (7 : 3).

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu vào bình nón nút mài, thấm ẩm bột dược liệu bằng 5 ml *amoniac đậm đặc* (TT), để yên 30 phút. Thêm 50 ml *ethanol* 96 % (TT), đun trong cách thủy 30 phút. Lấy dịch chiết *ethanol* cô đến cạn, hòa tan căn bằng *dung dịch acid sulfuric* 3 % (TT) (2 lần, mỗi lần 30 ml), lọc. Kiểm hóa dịch lọc bằng *amoniac đậm đặc* (TT) đến pH 9 đến 10, lắc dung dịch này với *cloroform* (TT) (2 lần, mỗi lần 20 ml). Gộp dịch chiết *cloroform*, lọc, bay hơi trên cách thủy đến còn 2 ml, dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Diệp hạ châu đắng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết tương tự như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *thuốc thử Dragendorff* (TT). Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 20,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 3,15 mm không quá 8,0 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 7,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hái quanh năm nhưng tốt nhất vào mùa hè thu. Thu hái về rửa sạch, dùng tươi hoặc cắt đoạn phơi khô, hoặc lấy lá ép thành bánh.

Bảo quản

Đề nơi khô mát, tránh ẩm, mốc, mọt.

Tính vị qui kinh

Vì khô, lương. Vào kinh phế thận.

Công năng, chủ trị

Tiêu độc, sát trùng, tán úr, thông huyết, lợi tiểu. Chủ trị: tiểu tiện bí, rất, tắc sữa, kinh bế, hoặc mụn nhọt, lở ngứa ngoài da.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 16 g, sắc uống. Dùng ngoài: lấy cây tươi giã nát, đắp vào chỗ lở loét hoặc vết thương do côn trùng cắn.

DỪA CẠN (Lá)***Folium Catharanthi rosei***

Lá phơi hay sấy khô của cây Dừa cạn [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don], họ Trúc đào (Apocynaceae).

Mô tả

Lá nguyên hình bầu dục hẹp, màu lục xám hay lục nhạt, đầu hơi nhọn, gốc lá thuôn hẹp. Phiến lá dài 3,5 cm đến 5 cm, rộng 1,5 cm đến 3 cm. Gân hình lông chim, lồi ở mặt dưới lá. Cuống dài 0,3 cm đến 0,7 cm. Mùi hắc, vị đắng.

Vĩ phẫu

Biểu bì trên và dưới gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn, mang 2 loại lông che chở: Lông che chở đa bào dài gồm 2 tế bào đến 5 tế bào (thường là 2), tế bào chân ngắn, tế bào đầu dài nhọn và loại lông che chở đơn bào ngắn.

Phần gân chính: Dưới lớp tế bào biểu bì trên là đám mô dày góc. Mô mềm gồm những tế bào thành mỏng, kích thước không đều, giữa các tế bào mô mềm để hở những khoảng gian bào hình ba cạnh. Bó libe-gỗ

chồng kép hình cung xếp giữa gân lá gồm những đám libe tế bào nhỏ, xếp thành 2 cung bao bọc lấy cung gỗ. Mạch gỗ xếp đều đặn.

Phần phiến lá gồm một hàng tế bào mô giậu xếp đều đặn và mô mềm khuyết tế bào nhỏ thành mỏng, xếp không đều.

Bột

Mảnh biểu bì mang lỗ khí và lông che chở đa bào, đôi khi đơn bào. Lỗ khí có ba tế bào phụ hình dạng thay đổi, thường có một tế bào nhỏ hơn 2 tế bào kia. Mạch gân lá gồm tế bào thành mỏng, hình chữ nhật. Rải rác có lông che chở 2 đến 5 tế bào, bề mặt lấm tấm. Mạch mô mềm giậu, mô mềm khuyết. Mạch mạch vạch, mạch mạng.

Định tính

Lấy 3 g bột dược liệu cho vào một bình nón, thấm ẩm đều với 2 ml *amoniac đậm đặc* (TT). Thêm 30 ml *cloroform* (TT), để yên 30 phút, thỉnh thoảng lắc đều. Lọc, dịch lọc cho vào bình gạn, lắc với 5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 %* (TT) trong 2 đến 5 phút. Để lắng, gạn lấy phần dung dịch acid cho vào 4 ống nghiệm, mỗi ống 0,5 ml; lần lượt làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer* (TT), xuất hiện tủa trắng.

Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff* (TT), xuất hiện tủa đỏ cam.

Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat* (TT), xuất hiện tủa nâu.

Ống 4: Thêm 2 giọt *dung dịch acid picric* (TT), xuất hiện tủa vàng.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 4,0 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất vô cơ: Không quá 0,5 %.

Bộ phận khác của cây: Không quá 3,0 %.

Tỷ lệ lá màu đen cháy: Không quá 1,0 %.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 15 g bột dược liệu khô kiệt, cho vào bình nón 250 ml có nút mài, thấm ẩm đều với 5 ml *amoniac đậm đặc* (TT). Thêm chính xác 150 ml *cloroform* (TT), lắc mạnh, để qua đêm. Lọc. Lấy 100 ml dịch lọc tương ứng với 10 g bột dược liệu, chiết với *dung dịch acid sulfuric 10 %* (TT) 4 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết acid rồi kiểm hóa bằng *amoniac đậm đặc* (TT) đến pH 10, lắc với *cloroform* (TT) 4 lần (3 lần đầu mỗi lần dùng 15 ml, lần thứ 4 dùng 10 ml).

Sau đó cho thêm *amoniac đậm đặc* (TT) đến pH 11 đến 12 rồi lắc tiếp với *cloroform* (TT) 4 lần như trên. Gộp dịch chiết cloroform, loại nước bằng *natri sulfat khan* (TT), cất thu hồi bớt dung môi rồi chuyển vào một bình đã xác định khối lượng. Bốc hơi dung môi cho tới khô. Làm khô trong bình hút ẩm với silica gel đến khối lượng không đổi và cân.

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,7 % alcaloid toàn phần tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái lá trước khi cây có hoa, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản

Đề nơi khô, mát, tránh mốc.

Tính vị, qui kinh

Vị hàn, lương, có độc. Vào các kinh tâm, can

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết, tiêu thũng giải độc, an thần hạ áp. Chủ trị: Tăng huyết áp, tiểu đường, kinh nguyệt không đều, ly, bí tiểu. Còn dùng trị bệnh bạch cầu lympho cấp.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 16 g, dạng thuốc sắc.

DỪA CẠN (RỄ)

Radix Catharanthi rosei

Rễ phơi hay sấy khô của cây Dừa cạn [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don], họ Trúc đào (Apocynaceae).

Mô tả

Rễ cong queo hoặc thẳng, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 1 cm đến 2 cm, phía trên có đoạn gốc thân dài 3 cm đến 5 cm, phía dưới có nhiều rễ con nhỏ. Mặt ngoài hơi nhẵn, có màu nâu vàng, đoạn thân màu xám có vết sẹo của cành con. Rễ cứng khó bẻ, mặt bẻ lõm chòem. Mặt cắt ngang có màu trắng ngà, không mùi, vị đắng.

Vị phẫu

Mặt cắt ngang có hình tròn. Ngoài cùng là lớp vỏ rất dày, cấu tạo bởi nhiều hàng tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ gồm các tế bào thành mỏng, xếp đồng tâm, các tế bào thường bị dồn ép lại. Libe gồm các bó xếp liền nhau tạo thành vòng bao quanh gỗ. Tầng phát sinh libe-gỗ gồm một lớp tế bào. Phần gỗ có nhiều mạch gỗ xếp thành hàng sát nhau.

Bột

Bột có màu vàng nhạt, không mùi, vị đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mạch bản, sợi đứng riêng lẻ hay xếp thành bó, mảnh mô mềm có chứa tinh bột, mảnh mạch điểm. Các hạt tinh bột đơn hoặc kép đôi, kép ba, đường kính 0,01 mm đến 0,015 mm.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào bình nón nút mài, làm ẩm bột dược liệu bằng *amoniac đậm đặc* (TT) trong 30 phút, thêm 25 ml *cloroform* (TT), lắc kỹ trong 30 phút, lọc vào bình gạn, chiết 3 lần bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 %* (TT), mỗi lần 5 ml. Lấy dịch chiết acid (dung dịch A) để làm phản ứng sau:

Lấy 4 ml dung dịch A cho vào 4 ống nghiệm, mỗi ống 1 ml.

Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer* (TT), xuất hiện tủa vàng nhạt.

Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff* (TT), xuất hiện tủa đỏ cam.

Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat* (TT), xuất hiện tủa nâu nhạt.

Ống 4: Thêm 2 giọt *dung dịch acid picric* (TT), xuất hiện tủa vàng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (19 : 1).

Dung dịch thử: Chuyển dung dịch A còn lại ở trên vào bình gạn, kiềm hóa bằng *amoniac đậm đặc* (TT) tới pH 9 đến 10, lắc với *cloroform* (TT) 2 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, cô trên cách thủy tới còn khoảng 5 ml dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan ajmalicin chuẩn trong hỗn hợp dung môi *cloroform - methanol* (1 : 1) để được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml. Nếu không có chất chuẩn thì dùng 5 g bột rễ Dừa cạn (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *thuốc thử Dragendorff* (TT). Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết ajmalicin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (nếu dùng chất chuẩn) hoặc dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 100 °C đến 105 °C, sấy tới khối lượng không đổi).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu (qua rây số 1000) cho vào bình Soxhlet, thêm 300 ml *methanol* (TT), chiết liên tục 5 giờ đến 6 giờ ở nhiệt độ 70 °C đến 80 °C cho kiệt alkaloid, cất thu hồi methanol dưới áp suất giảm tới gần, hòa tan gần với *dung dịch acid*

sulfuric 2 % (TT) 6 lần, lần đầu 50 ml, 5 lần sau mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết acid, lắc với *cloroform* (TT) 3 lần, mỗi lần 30 ml. Bỏ dịch cloroform. Kiềm hóa phần dịch chiết acid bằng *dung dịch amoniac đậm đặc* (TT) tới pH 10, chiết lấy alkaloid toàn phần bằng cách lắc với *cloroform* (TT) 6 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp các dịch chiết cloroform và lọc qua phễu lọc có *natri sulfat khan* (TT), rửa natri sulfat bằng 5 ml *cloroform* (TT) lấy dịch lọc và dịch rửa, cất thu hồi cloroform tới gần, sấy gần ở 105 °C trong 1 giờ. Hòa tan gần trong hỗn hợp dung môi gồm 10 ml *cloroform khan* (TT) và 10 ml *acid acetic khan* (TT). Thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch tím tinh thể* (CT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,01 N* (CD) đến khi dung dịch có màu xanh lam hết ánh tím.

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,01 N* (CD) tương ứng với 3,5242 mg alkaloid toàn phần tính theo ajmalicin.

Hàm lượng alkaloid toàn phần trong rễ dừa cạn được tính theo công thức:

$$X (\%) = \frac{V \times 3,5242 \times k \times 10}{a(100 - b)}$$

Trong đó:

V là thể tích *dung dịch acid perchloric 0,01 N* (CD) (ml);

k là hệ số điều chỉnh của dung dịch chuẩn độ;

a là lượng bột dược liệu đem định lượng (g);

b là độ ẩm của dược liệu.

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,7 % alkaloid toàn phần tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu lấy rễ, rửa sạch đất cát, phơi hoặc sấy ở 50 °C tới khô.

Bảo quản

Đề nơi khô ráo, thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị qui kinh

Vi khô, lương, có độc. Vào các kinh can, tâm, thận.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết, hạ huyết áp, giải độc, an thần. Chủ trị: tăng huyết áp, bệnh bạch cầu, làm nguyên liệu chiết xuất một số alkaloid trị một số bệnh ung thư.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 12 g. Dạng thuốc sắc hoặc hãm.

Kiêng kỵ

Có thai không dùng.

ĐẠI (Hoa)***Flos Plumeriae rubrae*****Bông sứ, Hoa sứ trắng**

Hoa phơi hoặc sấy nhẹ đến khô của cây Đại [*Plumeria rubra* L. var. *acutifolia* (Aiton) Woodson], họ Trúc đào (Apocynaceae).

Mô tả

Hoa dài 4 cm đến 5 cm, 5 cánh mỏng màu trắng ở phía ngoài và vàng chanh ở dưới phía trong. Khi khô chuyển thành màu nâu đất, rất nhẹ, quần queo, đôi khi cánh hoa xoắn lại. Mùi thơm nhẹ.

Bột

Bột màu nâu, mùi thơm, vị hơi ngọt. Soi kính hiển vi thấy: Hạt phần hình cầu, đường kính khoảng 25 µm, màu vàng nhạt, có 3 lỗ nảy mầm rõ. Mảnh biểu bì cánh hoa gồm những tế bào thành mỏng hình xoắn. Phần ống hoa có lông che chở một tế bào, mặt lông có nhiều nốt lấm tấm. Mảnh biểu bì đài hoa gồm các tế bào hình nhiều cạnh, thành mỏng, rải rác có các bó mạch xoắn.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa - ethyl acetat - acid formic* (7,5 : 2,5 : 0,1).

Dung dịch thử: Lấy phần bã của 5 g bột dược liệu sau khi chiết với *ether dầu hỏa* (60 °C đến 90 °C) (TT), hoặc *n-hexan* (TT) (bã ở phần B mục Định lượng) đã được làm khô, tẩm với 5 ml *dung dịch amoniac* 25 % (TT), đậy kín và để yên trong 30 phút. Chiết với *cloroform* (TT) trong bình Soxhlet trong 2 giờ kể từ khi sôi dung môi. Cô thu hồi dung môi đến gần khô. Hòa lẫn với 10 ml *dung dịch acid sulfuric* 10 % (TT), lọc. Tráng rửa bình và giấy lọc bằng 10 ml *dung dịch acid sulfuric* 1 % (TT), tiếp tục rửa bằng 5 ml *nước*. Gộp dịch lọc và dịch rửa, kiểm hóa bằng *dung dịch amoniac* 10 % (TT) đến pH 10 đến 11. Chiết với *cloroform* (TT) lần lượt với 25 ml, 20 ml, 15 ml, 10 ml. Gạn và lọc dịch chiết *cloroform* qua *natri sulfat khan* (TT). Cô thu hồi dung môi đến còn lại gần khô. Hòa lẫn với 1 ml *cloroform* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan ajmalin chuẩn trong *cloroform* (TT) để được dung dịch có nồng độ 0,1 mg/ml. Nếu không có ajmalin, dùng phần bã của 5 g hoa Đại (mẫu chuẩn) sau khi đã chiết bằng *ether dầu hỏa* (60 °C đến 90 °C) hoặc *n-hexan* (TT) như phần B của mục Định lượng, tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun thuốc thử *Dragendorff* (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử

phải có vết cùng màu và giá trị R_f với vết ajmalin của dung dịch đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu đã được chuẩn bị từ dược liệu chuẩn.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ hoa màu đen: Không quá 0,5 %.

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Định lượng

A. *Alcaloid toàn phần*: Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu, song song tiến hành xác định độ ẩm. Tầm bột dược liệu với 5 ml *dung dịch amoniac* 25 % (TT), đậy kín và để yên trong 30 phút, chiết với *cloroform* (TT) bằng bình Soxhlet trong 2 giờ kể từ khi sôi dung môi. Cô thu hồi dung môi đến gần khô. Hòa lẫn với 10 ml *dung dịch acid sulfuric* 10 % (TT), lọc. Tráng rửa bình và giấy lọc bằng 10 ml *dung dịch acid sulfuric* 1 % (TT). Tiếp tục rửa bằng 5 ml *nước*. Gộp dịch lọc và dịch rửa lại, kiểm hóa bằng *dung dịch amoniac* 10 % (TT) đến pH 10 đến 11. Chiết bằng *cloroform* (TT), lần lượt với 25 ml, 20 ml, 15 ml, 10 ml. Gạn và lọc dịch chiết *cloroform* qua *natri sulfat khan* (TT) vào một bình đã biết trước khối lượng, rửa giấy lọc và *natri sulfat khan* bằng 10 ml *cloroform* (TT). Gộp dịch chiết và dịch rửa, cô thu hồi dung môi đến gần khô. Sấy khô gần ở 80 °C đến khối lượng không đổi, cân. Tính lượng alcaloid toàn phần chiết được theo công thức:

$$X\% = \frac{a \times 10000}{b \times (100 - c)}$$

Trong đó:

a là cân chiết được (g);

b là khối lượng mẫu thử (g);

c là độ ẩm của dược liệu.

Lượng alcaloid toàn phần phải đạt từ 0,08 % đến 0,13 %.

B. *Chất chiết được bằng n-hexan hoặc ether dầu hỏa* (60 °C đến 90 °C): Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu, song song tiến hành xác định độ ẩm. Chiết với *n-hexan* (TT) hoặc *ether dầu hỏa* (60 °C đến 90 °C) (TT) trong bình Soxhlet trong 2 giờ kể từ khi dung môi sôi. Lọc dịch chiết vào một bình đã biết trước khối lượng và được làm khô trong bình hút ẩm đến khối lượng không đổi. Cô thu hồi dung môi đến gần khô. Sấy gần ở 50 °C đến khô rồi giữ ở bình hút ẩm đến khối lượng không đổi. Cân, tính lượng chất chiết được

theo công thức ở mục A, phần Định lượng. Lượng chất chiết được không thấp hơn 5,0 %.

Chế biến

Thu hoạch vào tháng 5 đến tháng 8, hái hoa nõ, đem phơi hoặc sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Khô, bình. Vào các kinh phế.

Công năng, chủ trị

Nhuận tràng, hóa đờm chỉ ho, hạ huyết áp. Chủ trị: Táo bón, đi lý có mũi máu, sốt, ho, phổi yếu có đờm, huyết áp cao, phù thũng, bí tiểu tiện.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Người bệnh suy nhược toàn thân, ỉa chảy, phụ nữ mang thai kiêng dùng.

ĐẠI HOÀNG (Thân rễ)

Rhizoma Rhei

Thân rễ đã cạo vỏ để nguyên hay thái thành phiến phơi hay sấy khô của các loài Đại hoàng (*Rheum palmatum* L.) hoặc (*Rheum officinale* Baillon), hoặc giống lai của hai loài trên, họ Rau răm (Polygonaceae).

Mô tả

Dược liệu là thân rễ hình trụ, hình nón, dạng cầu hay méo mó không đều, dài 3 cm đến 17 cm, đường kính 3 cm đến 10 cm hay những phiến mỏng, bề rộng có thể tới 10 cm hay hơn. Thân rễ có mặt ngoài màu nâu vàng hay nâu đỏ, đôi khi có những đám đen nhạt. Vết bẻ màu đỏ cam, có hạt lớn nhẵn. Dạng phiến có màu vàng nâu có thể có những sọc đen, mềm, sờ hơi dính tay. Mùi đặc trưng, vị đắng và chát.

Vi phẫu

Mô mềm vỏ hẹp, libe ít phát triển, tầng sinh libe-gỗ có 3 đến 5 hàng tế bào, phía trong là phần gỗ xếp tỏa tròn. Phần ruột rộng có cấu tạo cấp ba được thành lập nhờ những tầng phát sinh phụ xuất hiện dưới dạng vòng tròn nhỏ sinh ra libe ở giữa và gỗ ở chung quanh. Các đám libe-gỗ cấp ba này có các tia ruột tỏa ra giống như những hình sao rất đặc biệt. Mô mềm có chứa tinh bột và tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Bột

Bột màu vàng nâu, mùi đặc trưng, vị đắng, chát. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh tế bào chứa chất màu vàng, tế bào mô mềm hình nhiều cạnh chứa hạt tinh bột, mảnh mạch mạng. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai to 50 µm đến 200 µm, tinh bột đơn hay kép hình đĩa hay đa

giác, có rốn hình sao. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm bột có huỳnh quang màu nâu.

Định tính

A. Đun sôi 0,1 g bột dược liệu với 5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 N (TT)* trong 2 phút. Để nguội, lắc kỹ hỗn hợp với 10 ml *ether ethylic (TT)*. Tách riêng lớp ether vào một bình gạn và lắc với 5 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*. Lớp dung dịch amoniac sẽ nhuộm màu đỏ tím.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - ethyl acetat - acid formic (75 : 25 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,1 g bột dược liệu cho vào bình nón, thêm 30 ml nước và 1 ml *acid hydrochloric (TT)*, đun trong cách thủy 15 phút. Để nguội, lọc, lắc dịch lọc với 25 ml *ether ethylic (TT)*. Gạn lấy lớp ether, lọc qua *natri sulfat khan (TT)*. Bốc hơi dịch ether đến cạn. Hòa tan cân bằng 1 ml *cloroform (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan emodin chuẩn trong *cloroform (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml. Nếu không có chất chuẩn đối chiếu emodin, dùng 0,1 g bột Đại hoàng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết phát huỳnh quang màu vàng, có cùng giá trị R_f với vết emodin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Các vết huỳnh quang vàng chuyển thành màu đỏ khi hơi bản mỏng trong hơi amoniac. Nếu dùng dược liệu đối chiếu, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrochloric

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - nước (100 : 3,5 : 10).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 10 ml *ethanol (TT)*, đun trong cách thủy trong 10 phút, để nguội, lọc lấy dịch lọc.

Cách tiến hành: Chấm lên bản mỏng 10 µl dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ở

hiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. không được có vết phát huỳnh quang màu tím xanh ở khoảng $R_f = 0,4$ đến $0,6$.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,1 g bột dược liệu đã qua rây có kích thước mắt rây 0,180 mm, cho vào bình nón có dung tích 250 ml. Thêm 30 ml *nước cất* và đun hồi lưu trong cách thủy 15 phút. Để nguội, thêm 50 mg *natri hydrocarbonat (TT)*, lắc đều trong 2 phút. Ly tâm, lấy 10 ml dịch trong cho vào một bình cầu dung tích 100 ml, thêm 20 ml *dung dịch sắt (III) clorid 2 % (TT)* và đun hồi lưu trong cách thủy 20 phút. Sau đó thêm 1 ml *acid hydrocloric (TT)* và tiếp tục đun hồi lưu 20 phút nữa. Để nguội, chuyển tất cả hỗn hợp vào một bình gạn và chiết với *ether (TT)* ba lần, mỗi lần 15 ml. Lọc lớp ether qua bông vào một bình định mức 100 ml. Rửa phễu bằng *ether (TT)* và thêm *ether (TT)* tới vạch. Lấy chính xác 10 ml dịch chiết ether cho vào cốc có mỏ dung tích 50 ml và bốc hơi đến cạn.

Hòa tan cặn với 10 ml *dung dịch magnesi acetat 0,5 % trong methanol (TT)*, đo độ hấp thụ ở bước sóng 515 nm với mẫu trắng là *methanol (TT)* (Phụ lục 4.1). Hàm lượng phần trăm dẫn chất hydroxyanthracen (X %) tính theo rhein được tính theo công thức:

$$X \% = \frac{A \times 0,64}{m}$$

Trong đó:

A là độ hấp thụ ở bước sóng 515 nm;

m là lượng dược liệu đã trừ độ ẩm, tính bằng gam (g).

Dược liệu phải chứa ít nhất 2,2 % dẫn chất hydroxyanthracen tính theo rhein.

Chế biến

Thu hoạch vào cuối mùa thu, khi lá khô héo hoặc mùa xuân năm sau, trước khi cây nảy mầm. Đào lấy thân rễ, loại bỏ rễ tua nhỏ, cạo vỏ ngoài, thái lát hoặc cắt đoạn, xuyên dây thành chuỗi, phơi khô.

Bào chế

Đại hoàng: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi âm can nơi thoáng mát.

Từ Đại hoàng (Đại hoàng tâm rượu): Lấy Đại hoàng phiến, dùng rượu phun ẩm đều, ủ qua, cho vào nồi đun nhỏ lửa, sao hơi se, lấy ra, phơi chỗ mát cho khô. Cứ 100 kg Đại hoàng phiến, dùng 10 lít rượu.

Thực đại hoàng: Đại hoàng thành miếng nhỏ, trộn đều rượu cho vào thùng đậy kín, đặt vào nồi nước nấu cách thủy cho chín lấy ra phơi khô. Cứ 100 kg Đại hoàng cần 30 lít rượu.

Đại hoàng thán: Cho phiến Đại hoàng vào nồi, sao to lửa đến khi mặt ngoài màu đen xém, bên trong màu nâu sẫm, nhưng vẫn còn hương vị Đại hoàng.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, tránh ẩm, mốc, mọt, biến màu.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn. Vào các kinh tỷ, vị, đại tràng, can, tâm bào.

Công năng, chủ trị

Thanh trường thông tiện, tả hỏa giải độc, trục ứ thông kinh. Chủ trị: Táo bón do thực nhiệt, đau bụng, hoàng đản, bế kinh, chấn thương tụ máu, chảy máu cam, nhọt độc sưng đau.

Từ đại hoàng: Thanh thượng tiêu. Chủ trị: Thượng tiêu nhiệt độc mắt đỏ, họng sưng, lợi răng sưng đau.

Thực đại hoàng: Tả hỏa giải độc. Chủ trị: Mụn nhọt, hỏa độc.

Đại hoàng thán: Lương huyết, chỉ huyết. Chủ trị: Huyết nhiệt, chứng xuất huyết có ứ (do tụ máu).

Cách dùng, liều lượng

Nhuận tràng, tẩy, xổ: Ngày dùng từ 3 g đến 12 g.

Dùng tả hạ không nên sắc lâu.

Dùng ngoài: Lượng thích hợp, tán bột trộn dấm để bôi, đắp nơi đau.

Kiêng kỵ

Không có ứ nhiệt tích đọng thì không nên dùng.

Phụ nữ có thai không được dùng.

ĐẠI HỒI (Quả)

Fructus Illicii veri

Quả chín đã phơi khô của cây Hồi (*Illicium verum* Hook.f.), họ Hồi (Illiciaceae).

Mô tả

Quả phức, thường gồm 8 đại, đôi khi nhiều đại hơn, màu nâu đỏ đến nâu sẫm, xếp thành hình sao xung quanh một trụ trung tâm. Mỗi đại hình lòng thuyền, dài 1 cm đến 2 cm, rộng 0,5 cm, cao 0,7 cm đến 1 cm. Bờ trên gần như thẳng, nhẵn, có một đường nứt thành 2 mảnh để lộ ra một hạt. Bờ dưới hơi tròn và sần sùi. Hai mặt bên nhẵn nheo, tận cùng bởi một chòm tù, ở một góc có khoảng nhẵn hơn (nơi dính giữa các đại). Mặt trong màu nhạt hơn và nhẵn bóng. Cuống quả nhỏ và cong, dính vào trụ quả. Hạt hình trái xoan, màu vàng nâu, nhẵn bóng. Quả có mùi thơm dễ chịu, vị ngọt.

Vi phẫu

Vỏ quả ngoài gồm các tế bào biểu bì dẹt, phủ bởi một lớp cutin lồi lên, có lỗ khí. Vỏ quả giữa gồm những tổ chức rời ra ở vùng ngoài và xít nhau ở vùng trong, có các tế bào rất nhỏ, thành hơi dày, có những chỗ màu nâu, có nhiều bó libe-gỗ và nhiều tế bào tiết tinh dầu rải rác. Vỏ quả trong gồm một dãy tế bào có hình dạng khác nhau tùy theo nơi quan sát. Trong phần bao bọc khoang quả có các tế bào hình chữ nhật, thành tương đối mỏng và xếp thành hình giậu. Trong phần tương ứng với đường nứt: Các tế bào nhỏ hơn, thành rất dày và có các ống trao đổi. Về phía trong được

tăng cường bởi một khối tế bào mô cứng hình nhiều cạnh, thành rất dày. Tế bào biểu bì ở vách ngoài và vách bên của hạt đều dày, ở vách trong tương đối mỏng. Hạt có nội nhũ.

Bột

Tế bào vỏ quả ngoài có thành hơi dày, có vân ngoằn ngoèo và lỗ khí. Tế bào mô cứng của vỏ quả giữa hình thoi (nhìn bên) hay nhiều cạnh (nhìn trước mặt), thành rất dày, có ống trao đổi rõ. Tế bào mô cứng của vỏ quả trong hình chữ nhật thành hơi dày. Tế bào mô cứng của vỏ hạt (lớp ngoài) hình chữ nhật, thành rất dày. Tế bào mô cứng của vỏ hạt (lớp trong) có tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Thể cứng của cuống quả to và phân nhánh, thành dày và có ống trao đổi nhỏ có vân rõ. Tế bào nội nhũ thành mỏng, trong có hạt aleuron. Ngoài ra, còn có sợi dài, mảnh mạch xoắn.

Định tính

A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, cho vào một ống nghiệm. Đun sôi trong 2 phút với 5 ml *ethanol* 90 % (TT). Để nguội, lọc, lấy 1 ml dịch lọc, thêm 10 ml *nước*, dung dịch sẽ có tủa trắng.

B. Lấy 0,10 g bột dược liệu, thêm 4 ml *dung dịch kali hydroxyd* 5 % (TT). Đun sôi trong 2 phút, thêm 10 ml *nước*, dung dịch sẽ có màu đỏ nâu.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa - ether (95 : 5).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, cho vào bình nón có nút mài dung tích 60 ml. Thêm 10 ml *cloroform* (TT), ngâm lạnh trong 4 giờ, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch tinh dầu Hồi (mẫu chuẩn) 0,1 % (tt/tt) trong *cloroform* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin* 1 % trong *acid sulfuric* (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 phút. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử xuất hiện 4 vết, trong đó vết số 3 lớn nhất có cùng giá trị R_f (khoảng 0,5) và cùng màu sắc (đỏ sau chuyển sang tím) với vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13, dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 20 g bột dược liệu thô, thêm 150 ml *nước*, cất trong 3 giờ. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 7,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, đông. Hái lấy quả từ màu lục biến thành vàng, nhúng qua trong nước sôi, sấy nhẹ cho khô hoặc phơi trong bóng râm khoảng 5 đến 6 ngày cho khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh bay tinh dầu.

Tính vị, qui kinh

Tân, cam, ôn. Vào các kinh can, thận, tỳ vị.

Công năng, chủ trị

Ôn dương, tán hàn, kiện tỳ, tiêu thực, lý khí, chỉ thống. Chủ trị: Đau bụng, sôi bụng, nôn mửa, ỉa chảy, đau nhức cơ khớp do lạnh.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g dạng thuốc sắc, ngâm rượu dùng xoa bóp.

Kiểm kê

Âm hư hỏa vượng không dùng.

ĐẠI PHÙ BÌNH

Herba Pistiae

Bèo cái

Cả cây bỏ rễ đã phơi hay sấy khô của Bèo cái (*Pistia stratiotes* L.), họ Ráy (Araceae).

Mô tả

Toàn cây đã bỏ rễ, lá mọc quanh gốc thành hình hoa thị, nhẵn nhéo, thường mọc thành cụm. Phiến lá hình trứng ngược, rộng từ 2 cm đến 8 cm, màu lục nhạt, mặt dưới có lông mịn. Chết mềm dễ vỡ vụn. Mùi thơm nhẹ, vị hơi mặn, cay.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 20,0 % (Phụ lục 9.7). Nung đến khối lượng không đổi.

Chế biến

Thường thu hái vào mùa hè, vớt lấy cả cây, để ráo nước, loại bỏ rễ và tạp chất, phơi khô. Có thể sao vàng hoặc đồ chín rồi phơi khô và tán bột.

Bào chế

Rửa sạch, loại bỏ rễ và tạp chất, thái nhỏ phơi khô. Có thể phơi khô, sao vàng hoặc đồ chín, phơi khô, tán bột.

Bảo quản

Để nơi khô, mát.

Tính vị, qui kinh

Tân, hàn. Vào hai kinh phế, thận.

Công năng, chủ trị

Phát hãn khu phong, hành thủy tiêu phù. Chủ trị: Ngoại cảm, mày đay (phong chẩn, ần chẩn), đơn độc, phù thũng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 8 g dược liệu khô, dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài: Giã nát với ít muối để đắp hoặc sắc nước đặc, xông rửa.

Kiêng kỵ

Không phải thực nhiệt, thực tà, người ra mồ hôi nhiều, thể hư không nên dùng. Có thai, cấm dùng.

ĐẠI TÁO (Quả)***Fructus Ziziphi jujubae***

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Đại táo [*Ziziphus jujuba* Mill. var. *inermis* (Bge.) Rehd.], họ Táo ta (Rhamnaceae).

Mô tả

Quả hình bầu dục hoặc hình trứng, dài 2 cm đến 3,5 cm, đường kính 1,5 cm đến 2,5 cm, gốc quả lõm, có cuống quả ngắn. Vỏ quả ngoài mỏng, nhẵn nhều, màu hồng tối, hơi sáng bóng. Vỏ quả giữa mềm, xốp, ngọt và có dầu, màu vàng nâu hay nâu nhạt. Vỏ quả trong là một hạch cứng rắn, hình thoi dài, hai đầu nhọn, có 2 ô, chứa các hạt nhỏ hình trứng. Mùi thơm đặc biệt, vị ngọt.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat - acid acetic băng* (14 : 4 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 2 g dược liệu vào bình nón, thêm 10 ml ether dầu hòa (60 °C đến 90 °C) (TT), ngâm trong 10 phút và lắc siêu âm 10 phút, lọc, loại bỏ dịch ether dầu hòa, để khô cán trong không khí. Thêm 20 ml ether (TT), ngâm trong 1 giờ và lắc siêu âm 15 phút, lọc. Cô dịch lọc đến còn 2 ml dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Đại táo (mẫu chuẩn), tiến hành chiết tương tự như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *dung dịch acid sulphuric 10 % trong ethanol* (TT), sấy bản mỏng đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Mùa thu, hái quả chín, rửa sạch, phơi khô.

Bào chế

Lấy quả đại táo khô, loại hết tạp chất, rửa sạch, phơi khô, bỏ hạt trước khi dùng.

Bảo quản

Đề nơi khô mát, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Cam, ôn. Vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Bổ trung, ích khí, dưỡng huyết, an thần. Chủ trị: Tỳ hư kém ăn, kém sức, phân lỏng, hysteria.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 15 g.

ĐẠM TRÚC DIỆP***Herba Lophatheri*****Cỏ lá tre**

Toàn cây đã cắt bỏ rễ con phơi hay sấy khô của cây Đạm trúc điệp (*Lophatherum gracile* Brongn.) họ Lúa (Poaceae).

Mô tả

Thân dài 25 cm đến 75 cm, hình trụ, có đốt, mặt ngoài màu lục vàng, rỗng ở giữa. Bẹ lá mở tách ra. Phiến lá nguyên hình mác, dài 5 cm đến 20 cm, rộng 1 cm đến 3,5 cm, đôi khi bị nhàu và cuộn lại, mặt trên của lá màu lục nhạt hoặc màu lục vàng, các gân chính song song, gân nhỏ nằm ngang thành hình mạng lưới, với các mắt lưới hình chữ nhật, mặt dưới rõ hơn. Thê nhẹ, mềm dẻo. Mùi nhẹ, vị nhạt.

Vì phẫu

Lá: Biểu bì trên và dưới có từng quãng tế bào to chứa nước xen lẫn với từng quãng tế bào biểu bì nhỏ, có lỗ khí và lông che chở đơn bào ngắn, đầu nhọn. Mô mềm gồm những tế bào hình nhiều cạnh có thành mỏng. Nhiều bó libe-gỗ xếp rời nhau theo hình vòng cung gần biểu bì dưới. Mỗi bó libe-gỗ gồm có vòng nội bì bao bọc xung quanh, libe ở giữa có vòng mô cứng bao bọc, gỗ nằm sát libe có 3 mạch gỗ to xếp thành hình chữ V, đặt trong mô mềm gỗ. Xen kẽ với các bó libe-gỗ này có nhiều bó libe-gỗ nhỏ hơn. Nhiều đám mô cứng rời nhau, nằm sát biểu bì trên và dưới ở phiến và gân lá. Ở biểu bì dưới đám mô cứng ứng với bó libe-gỗ nhỏ, có khi nối liền một số bó libe-gỗ ở giữa với biểu bì dưới.

Bột

Màu vàng lục. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì trên và dưới gồm tế bào hình chữ nhật, hay gần

vuông, thành lượn sóng, mang lông che chở và lỗ khí. Biểu bì dưới có tế bào thành lượn sóng nhiều và nhiều lỗ khí hơn biểu bì trên. Lỗ khí hình thoi ngắn, khe lỗ khí hai đầu phình to, giữa thắt lại hình quả tạ. Lông che chở gồm hai loại: lông đơn bào dài, đầu thuôn nhọn, gốc hẹp và nhô lên, ít gặp; lông đơn bào ngắn, đầu thuôn nhỏ, gốc phình to, có nhiều trên các đường gân. Sợi dài, đầu thuôn nhọn, có loại màng hơi dày khoang rộng; có loại thành dày, khoang hẹp. Sợi mô cứng hình thoi, thành dày (ít gặp). Tế bào hình chữ nhật, thành dày. Mạch mạch, mạch xoắn.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hè khi cây chưa nở hoa, cắt lấy phần trên mặt đất, rửa sạch. Loại bỏ tạp chất và rễ, cắt khúc, sàng sạch bụi bám, phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Cam, đậm, hàn. Vào các kinh tâm, phế, tiểu trường.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, trừ phiền, lợi tiểu. Chủ trị: Nhiệt bệnh, khát nước, tâm nóng bứt rứt, lở miệng, lưỡi, tiểu tiện đỏ, rít, đái rất.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai không nên dùng.

ĐAN SÂM (Rễ)

Radix Salviae miltiorrhizae

Rễ phơi hoặc sấy khô của cây Đan sâm (*Salvia miltiorrhiza* Bunge), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Rễ ngắn, thô, đôi khi ở đầu rễ còn sót lại gốc của thân cây. Rễ hình trụ dài, hơi cong queo, có khi phân nhánh và có rễ con dạng tua nhỏ, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 0,3 cm đến 1 cm. Mặt ngoài màu đỏ nâu hoặc đỏ nâu tối, thô, có vân nhăn dọc. Vỏ rễ già bong ra, thường có màu nâu tía. Chất cứng và giòn, mặt bẻ gãy không chắc có vết nứt, hoặc hơi phẳng và đặc, phần vỏ màu đỏ nâu và phần gỗ màu vàng xám hoặc màu nâu tía với bó mạch màu trắng vàng, xếp theo hướng xuyên tâm. Mùi nhẹ, vị hơi đắng và se.

Dược liệu từ cây trồng tương đối mập chắc, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu nâu đỏ, có nếp nhăn dọc, phần vỏ bám chặt vào gỗ không dễ bóc ra. Chất chắc, mặt bẻ gãy tương đối phẳng, hơi có dạng chất sừng.

Vĩ phẫu

Rễ: Lớp bần gồm nhiều lớp tế bào có thành dày, bị bẹp. Mô mềm vỏ dày cấu tạo bởi tế bào hình tròn hay bầu dục, thành mỏng, xếp đều đặn theo hướng tiếp tuyến. Libe cấp 2 gồm những tế bào nhỏ, thành mỏng, xếp đều đặn và liên tục thành vòng tròn và tập trung dày hơn ở những chỗ tương ứng với các nhánh gỗ. Tia ruột rộng, mỗi tia gồm 6 đến 35 dãy tế bào có thành mỏng, xếp theo hướng xuyên tâm từ gần trung tâm xuyên qua gỗ đến libe cấp 2.

Bột

Màu đỏ nâu, mùi thơm, vị hơi ngọt sau đắng, chát. Soi kính hiển vi thấy: Mạch bần có các tế bào màu đỏ nâu, hình nhiều cạnh, thành dày. Tế bào mô mềm hình gần tròn, thành mỏng, mạch mạch điểm rộng 20 µm đến 50 µm. Sợi dài, thành dày.

Định tính

A. Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ethanol* (TT), đun sôi, lọc. Dịch lọc có màu đỏ vàng (dung dịch A).

Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 1 giọt *thuốc thử Nessler* (TT), cho tủa màu nâu đất.

Lấy 1 giọt dung dịch A, đặt trên phiến kính, bốc hơi *ethanol* cho khô, đem soi kính hiển vi có tinh thể màu đỏ da cam.

Lấy 1 giọt dung dịch A đặt trên phiến kính, thêm 1 giọt *dung dịch natri bisulfit* 3,3 %, lập tức xuất hiện tinh thể không màu.

B. Đun sôi 5 g bột dược liệu với 50 ml nước trong 15 phút đến 20 phút, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trong cách thủy tới khô. Hòa tan chất chiết được trong 3 ml đến 5 ml *ethanol* (TT), lọc: Nhỏ vài giọt dịch lọc lên tờ giấy lọc, để khô và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, thấy ánh sáng huỳnh quang lục-xanh lơ.

Lấy 0,5 ml dịch lọc trên, thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT), sẽ có màu lục bầm.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Benzen - ethyl acetat (19 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ether* (TT) lắc, để yên 1 giờ, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến cạn, hòa tan cạn trong 1 ml *ethyl acetat* (TT) dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu (1): Lấy 1 g bột Đan sâm (mẫu chuẩn), tiến hành chiết tương tự như đối với dung dịch thử và/hoặc

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan một lượng tanshinon II_A chuẩn trong *ethyl acetat* (TT) để thu được dung dịch đối chiếu chứa 2 mg tanshinon II_A trong 1 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, quan sát ở ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết đạt được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1); và/hoặc một vết màu đỏ sẫm trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng giá trị R_f và màu sắc với vết đạt được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Chất chiết được trong ethanol: Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng ethanol 95 % (TT) làm dung môi.

Chất chiết được trong nước: Không ít hơn 35,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp ngâm lạnh (Phụ lục 12.10), dùng nước làm dung môi.

Chế biến

Mùa xuân hay mùa thu, đào lấy rễ, rửa sạch, cắt bỏ rễ con, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Bào chế

Đan sâm khô, loại bỏ tạp chất và thân sót lại, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô để dùng.

Từ đan sâm (Chê rượu): Lấy đan sâm đã thái phiến, thêm rượu, trộn đều, đậy kín, để 1 giờ cho ngấm hết rượu, đem sao nhỏ lửa đến khô, lấy ra, để nguội. Cứ 10 kg Đan sâm dùng 1 lít rượu.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, vị hàn. Vào các kinh tâm, can.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết, thông kinh, giảm đau, thanh tâm lương huyết. Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, kinh nguyệt bế tắc, hành kinh đau bụng, huyết tích hờn cục, đau thất ngực; mất ngủ, tâm phiền.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Không dùng chung với Lê lô.

ĐANG SÂM (RỄ)

Radix Codonopsis pilosulae

Đang sâm bắc

Rễ phơi hoặc sấy khô của cây Đang sâm [*Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.], họ Hoa chuông (Campanulaceae).

Mô tả

Rễ hình trụ tròn hơi cong, dài 10 cm đến 35 cm, đường kính 0,4 cm đến 2 cm. Bề ngoài có màu nâu hơi vàng đến màu nâu hơi xám, phía trên của rễ có vết thân lõm xuống hình tròn, đoạn dưới có nhiều vân ngang. Toàn rễ có nhiều nếp nhăn dọc và rải rác có lỗ vỏ. Rễ dẻo, mặt cắt ngang thấy phần vỏ có màu vàng nhạt, phần lõi màu trắng ngà. Mùi thơm, vị ngọt nhẹ.

Vi phẫu

Phần vỏ hẹp, gồm 3 đến 4 hàng tế bào xếp đều đặn, tế bào mô mềm vỏ mỏng, hình nhiều cạnh, rải rác có tế bào chứa chất nhầy màu vàng nhạt. Phần gỗ sắp xếp theo hình tia, các mạch gỗ đứng rải rác hay cụm vào nhau.

Bột

Có nhiều hạt tinh bột nhỏ, nhiều mảnh mạch ngang, mạch chấm, mảnh mô mềm có chứa inulin, rải rác có tế bào chứa chất nhầy. Có nhiều tinh thể inulin hình quạt, có vân.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu (qua rây số 355), thêm 20 ml ethanol 70 % (TT), đun cách thủy trong 15 phút. Lọc lấy dịch trong để làm thí nghiệm:

Cho 5 ml dịch chiết vào ống nghiệm, bịt miệng ống, lắc trong 15 giây. Cột bột bên ít nhất trong vòng 10 phút.

Lấy 1 ml dịch chiết vào ống nghiệm sạch, cô cạn, hòa tan cân bằng 1 ml cloroform (TT). Thêm 1 ml anhydrid acetic (TT), thêm từ từ theo thành ống 1 ml acid sulfuric (TT). Phản ứng tạo thành vòng tím đậm giữa 2 lớp dung dịch thử.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel 60 GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: n-Butanol - acid acetic - nước (7 : 1 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu đã được rây qua rây số 355, chiết saponin bằng n-butanol bão hòa nước (TT) trong bình Soxhlet trong 1 giờ, cất thu hồi n-butanol. Hòa tan cân bằng 2 ml methanol (TT) được dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Đang sâm (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm và phun thuốc thử vanilin 2 % trong acid sulfuric, sấy bản

mỏng ở nhiệt độ 105 °C trong 10 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (trên sắc ký đồ xuất hiện 2 vết phát quang màu xanh ở bước sóng 366 nm).

Cách pha thuốc thử vanilin 2 % trong acid sulfuric (TT): Hòa tan 2 g *vanilin* (TT) trong *ethanol* 96 % (TT) vừa đủ 100 ml, thêm cẩn thận 2 ml *acid sulfuric* (TT). Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được dưới 55,0 % tính theo dược liệu khô kiệt. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 45 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, đào lấy rễ, rửa sạch, phơi khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô.

Bảo quản

Đề nơi khô ráo, tránh mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Cam bình, vào kinh tỳ, phế.

Công năng, chủ trị

Bổ trung ích khí, kiện tỳ ích phế. Chủ trị: Tỳ phế hư nhược, thờ đờn, tim đập mạnh, ăn yếu, phân lỏng, ho suyễn, hư tính, nội nhiệt, tiêu khát (đái tháo đường).

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 đến 30 g, dạng thuốc sắc, viên hoàn hay bột.

Kiêng kỵ

Không dùng chung với Lê lô.

ĐANG SÂM VIỆT NAM (RỄ)

Radix Codonopsis javanicae

Phòng đẳng sâm

Rễ phơi hoặc sấy khô của cây Đảng sâm Việt Nam [*Codonopsis javanica* (Blume.) Hook.f.], họ Hoa chuông (Campanulaceae).

Mô tả

Rễ nạc hình trụ có khi phân nhánh, đường kính 0,5 cm đến 2 cm, dài 6 cm đến 15 cm. Đầu trên phát triển to, có nhiều sẹo của thân. Mặt ngoài màu vàng nâu nhạt, trên có những rãnh dọc và ngang, chia rễ thành những đường lồi lõm. Chất chắc, dễ bẻ, vết bẻ không phẳng, không mịn. Mùi thơm, vị ngọt nhẹ.

Vi phẫu

Lớp vỏ gồm 4 đến 5 hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn thành hàng đồng tâm và dày xuyên tâm, có nhiều chỗ bị nứt rách. Mô mềm vỏ cấu tạo bởi tế bào nhiều cạnh, hơi dài dẹt. Tế bào libe nhỏ xếp xít nhau. Mạch gỗ xếp thành hàng tạo thành hệ thống hình nan quạt tỏa ra từ tâm. Tia ruột có tế bào thành mỏng.

Bột

Màu vàng nâu, mùi thơm, vị ngọt nhẹ. Mảnh mô mềm, khối inulin có nhiều hình dạng, hạt tinh bột đơn lẻ có rốn phân nhánh, mảnh mạch điểm, tinh thể calci oxalat hình khối.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu (qua rây số 355), thêm 20 ml *ethanol* 70 % (TT), đun hồi lưu trong cách thủy 15 phút. Lọc lấy dịch trong để làm các phản ứng sau:

Cho 5 ml dịch chiết vào ống nghiệm, bịt miệng ống, lắc 15 giây. Cột bột bên ít nhất trong vòng 10 phút.

Lấy 1 ml dịch chiết vào ống nghiệm sạch, cô cạn, hòa tan cân bằng 1 ml *cloroform* (TT). Thêm 1 ml *anhydrid acetic* (TT), thêm từ từ theo thành ống 1 ml *acid sulfuric* (TT). Xuất hiện vòng tím đậm giữa 2 lớp dung dịch thử.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel* 60 GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: *Cloroform* - *methanol* (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu (qua rây số 355), chiết với *ether dầu hòa* (30 °C đến 60 °C) (TT) trong bình Soxhlet 1 giờ, lấy bã dược liệu cho bay hết hơi ether dầu hòa, thêm 50 ml *methanol* (TT) rồi chiết trong bình Soxhlet 1 giờ. Lấy dịch chiết methanol cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm được cẩn, thêm 30 ml *nước cất* để hòa tan cẩn. Lắc dung dịch này với *n-butanol bão hòa nước* cho đến khi lớp n-butanol không còn màu. Gộp dịch n-butanol, rửa 3 lần bằng *nước cất*. Lấy dịch butanol cất thu hồi dung môi được cẩn. Hòa tan cân bằng 2 ml *methanol* (TT) được dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Đảng sâm Việt Nam (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm sau đó *phun thuốc thử vanilin* 2 % trong *ethanol* và *acid sulfuric*, sấy ở nhiệt độ 105 °C trong 10 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (trên sắc ký đồ xuất hiện 4 vết phát quang màu xanh và 2 vết phát quang màu vàng chanh khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Bằng thuốc thử hiện màu xuất hiện 9 vết).

Cách pha thuốc thử vanilin 2 % trong ethanol và acid sulfuric: Hòa tan 2 g *vanilin* (TT) trong *ethanol* 96 % (TT) vừa đủ 100 ml, thêm cẩn thận 2 ml *acid sulfuric* (TT). Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1,0 g, 70 °C, đến khối lượng không đổi).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất vô cơ: Không quá 1,0 %.

Tỷ lệ các bộ phận khác của cây: Không quá 3 %.

Kim loại nặng

Không quá 1 phần triệu Pb; 0,2 phần triệu Cd; 0,1 phần triệu Hg; 1,5 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 2,5 %.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Định lượng

Cân chính xác 5 g bột dược liệu (qua rây số 355), thêm 50 ml *ether dầu hỏa* (30 °C đến 60 °C) (TT), chiết bằng bình Soxhlet đến khi hết chất béo (khoảng 6 giờ), lấy bã bay hết hơi ether. Chiết tiếp như trên bằng 50 ml *cloroform* (TT) trong 3 giờ, lấy bã bay hết hơi cloroform. Chiết tiếp như trên bằng 50 ml *methanol* (TT) trong 6 giờ. Lấy dịch chiết methanol cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm được cần, thêm 30 ml *nước cất* để hòa tan cần. Lắc dung dịch này với *n-butanol bão hòa nước* cho đến khi lớp *n-butanol* không còn có màu. Gộp dịch *n-butanol*, rửa 3 lần bằng *nước cất*. Lấy dịch butanol cất thu hồi *n-butanol* được cần. Hòa tan cần bằng 2 ml *ethanol* 80 % (TT) rồi chuyển vào một cốc đã được xác định khối lượng trước. Bốc hơi trên cách thủy được cần. Sấy khô cần ở 105 °C, trong 3 giờ. Cân cần.

Tính hàm lượng saponin toàn phần (X %) theo công thức sau:

$$X \% = \frac{a \times 100}{m \times (100 - d)} \times 100$$

Trong đó:

a là khối lượng cần saponin thu được (g);

d là độ ẩm của dược liệu (%);

m là khối lượng dược liệu đã dùng (g).

Hàm lượng saponin toàn phần không nhỏ hơn 3,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Mùa thu đông, đào lấy rễ củ, rửa sạch, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, ủ mềm, thái lát, phơi khô.

Chế với gừng: Loại bỏ tạp chất, ủ mềm, thái phiến, tẩm nước gừng, ủ khoảng 30 phút, sao khô. 10 kg dược liệu cần 1 kg Gừng tươi (giã nhỏ Gừng tươi, thêm nước sạch vừa đủ, vắt lấy nước cốt. Cứ 1 kg dược liệu cần 200 ml nước cốt gừng).

Bảo quản

Để nơi khô ráo, tránh mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Cam, bình (hơi ôn). Vào kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị

Bổ tỳ, ích khí, sinh tân chỉ khát. Chủ trị: Tỳ vị suy kém, phế khí hư nhược, kém ăn, đại tiện lỏng, mệt mỏi, khát nước, ốm lâu ngày cơ thể suy nhược, khí huyết hư.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 20 g từ 40 g, dạng thuốc sắc, viên hoàn, bột, ngâm rượu. Thường phối hợp trong các bài thuốc.

ĐANG SÂM VIỆT NAM CHẾ

Radix Codonopsis javanicae preparata

Rễ cây Đàng sâm Việt Nam [*Codonopsis javanica* (Blume.) Hook.f.], họ Hoa chuông (Campanulaceae) được chế biến bằng phương pháp chung.

Mô tả

Dược liệu có dạng phiến hoặc đoạn màu nâu đen, dễ bể, vết bể không phẳng, mùi thơm, vị ngọt.

Chế biến

Lấy dược liệu khô, loại bỏ tạp chất, ủ mềm (trong quá trình ủ thường xuyên đảo đều). Xếp rễ to xuống dưới, rễ nhỏ phía trên vào một dụng cụ bằng inox. Chưng cách thủy trong 2 giờ. Lấy ra, để nguội. Rễ to thái phiến, rễ nhỏ cắt thành đoạn, phơi cho se hoặc sấy ở 45 °C cho se, tẩm nốt nước chưng (nếu có). Phơi hoặc sấy đến khô ở nhiệt độ dưới 70 °C.

Định tính

A. Phép thử A của chuyên luận Đàng sâm Việt Nam

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel 60 GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu (qua rây số 355), chiết với *ether dầu hỏa* (30 °C đến 60 °C) (TT) trong bình Soxhlet 1 giờ, lấy bã dược liệu cho bay hết hơi ether dầu hỏa, thêm 50 ml *methanol* (TT) rồi chiết trong bình Soxhlet 1 giờ. Lấy dịch chiết methanol cất

thu hồi dung môi dưới áp suất giảm được cần, thêm 30 ml nước cất để hòa tan cần. Lắc dung dịch này với *n*-butanol bão hòa nước cho đến khi lớp *n*-butanol không còn màu. Gộp dịch *n*-butanol, rửa 3 lần bằng nước cất. Lấy dịch butanol cất thu hồi dung môi được cần. Hòa tan cần bằng 2 ml *methanol* (TT) được dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Đăng sâm Việt Nam chế (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm sau đó *phun thuốc thử vanilin 2 % trong ethanol và acid sulfuric*, sấy ở nhiệt độ 105 °C trong 10 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (trên sắc ký đồ xuất hiện 2 vết phát quang màu xanh khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Bằng thuốc thử hiện màu xuất hiện 9 vết).

Cách pha thuốc thử vanilin 2 % trong ethanol và acid sulfuric: Hòa tan 2 g *vanilin* (TT) trong *ethanol* 96 % (TT) vừa đủ 100 ml, thêm cần thận 2 ml *acid sulfuric*. Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Độ ẩm

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.6 hoặc bằng máy xác định độ ẩm, đặt chế độ tự động, nhiệt độ sấy là 70 °C).

Tro toàn phần, Tro không tan trong acid, Kim loại nặng, Tạp chất

Xem chuyên luận Đăng sâm Việt Nam.

Định lượng

Hàm lượng saponin toàn phần không nhỏ hơn 1,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Cách xác định: Xem mục Định lượng của chuyên luận Đăng sâm Việt Nam.

Bảo quản

Đề nơi khô ráo, tránh mốc, mọt.

Tính vị, qui kinh

Vị ngọt, tính bình (hơi ôn). Vào kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị

Bổ tỳ, ích khí, sinh tân chỉ khát. Chủ trị: Tỳ vị suy kém, phế khí hư nhược, kém ăn, đại tiện lỏng, mệt mỏi, khát nước, ốm lâu ngày cơ thể suy nhược, khí huyết hư.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 20 g đến 30 g, dạng thuốc sắc, viên hoàn, bột, ngâm rượu. Thường phối hợp trong các bài thuốc.

ĐĂNG TÂM THẢO

Medulla Junci effusi

Cỏ bắc đèn

Ruột thân đã phơi hoặc sấy khô của Cỏ bắc đèn (*Juncus effusus* L.), họ Bắc (Juncaceae).

Mô tả

Ruột thân hình trụ tròn nhỏ, đường kính 0,1 cm đến 0,3 cm, dài tới 90 cm. Mặt ngoài màu trắng hoặc vàng nhạt, có vân dọc nhỏ. Thê nhẹ, xốp, hơi có tính đàn hồi, dễ đứt, mặt đứt màu trắng. Không mùi vị.

Bột

Màu gần trắng. Soi kính hiển vi thấy: Tế bào mô mềm hình sao, liên kết với nhau dạng nhánh tạo thành các khoang chứa không khí hình tam giác hoặc tứ giác. Các nhánh có 4 đến 8 tế bào, dài 5 μ m đến 15 μ m, rộng 5 μ m đến 12 μ m, thành hơi dày, lỗ nhỏ, thành tiếp nối giữa các tế bào mỏng, đôi khi có dạng hạt.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat* (10 : 7).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol* (TT), đun hồi lưu, để nguội, lọc, bốc hơi dịch lọc tới khô, rửa cần bằng 2 ml *ether* (TT), bỏ dịch ether, hòa tan cần trong 1 ml *methanol* (TT) dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Đăng tâm thảo (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Phun dung dịch *acid phosphomolybdic 5 % trong ethanol* (TT), sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 0,5 g, 85 °C, 4 h).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Dùng 5 g dược liệu. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 50 % làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ đến mùa thu, cắt lấy thân, phơi khô, lấy riêng lõi, vuốt thẳng, buộc thành bó nhỏ.

Bào chế

Đăng tâm thảo: Trừ bỏ tạp chất, cắt đoạn.

Đăng tâm thán: Lấy Đăng tâm thảo sạch, cho vào nồi đất, bịt kín, đốt âm i thật kỹ, để nguội, lấy ra.

Bảo quản

Đề nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Cam, đậm, vi hàn. Vào kinh tâm, phế, tiểu trường.

Công năng, chủ trị

Thanh tâm hỏa, lợi tiểu tiện. Chủ trị: Tâm phiền mất ngủ, lở miệng, lưỡi, tiểu tiện ít, đau.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 1 g đến 3 g, dạng thuốc sắc hoặc thuốc bột.

Kiêng kỵ

Người thể hư, trúng hàn, tiểu tiện không kim được không nên dùng.

ĐÀO (Hạt)**Semen Pruni**

Hạt lấy ở quả chín phơi khô của cây Đào [*Prunus persica* (L.) Batsch.] hoặc cây Sơn đào [*Prunus davidiana* (Carr.) Franch.], họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả

Đào nhân: Hạt hình trứng dẹt, dài 1,2 cm đến 1,8 cm, rộng 0,8 cm đến 1,2 cm, dày 0,2 cm đến 0,4 cm. Mặt ngoài có màu nâu vàng đến nâu đỏ, có những nốt sần nhỏ nhô lên. Một đầu nhọn, một đầu tròn, phần giữa phình to, hơi lệch, bờ cạnh tương đối mỏng. Đầu nhọn có rốn hình tuyến ngắn. Đầu tròn có màu hơi thẫm, hợp điểm không rõ, từ hợp điểm tỏa ra nhiều bó mạch dọc. Vỏ hạt mỏng, hai lá mầm màu trắng, nhiều chất dầu. Mùi thơm nhẹ, vị béo, hơi đắng.

Sơn đào nhân: Hạt hình trứng, dài 0,9 cm, rộng 0,7 cm, dày 0,5 cm.

Bột

Đào nhân: Tế bào đá màu vàng hoặc nâu vàng, nhìn bên có hình vỏ ốc, hình mũ sắt, hình cung hoặc hình bầu dục, cao 54 µm đến 153 µm, phần đáy rộng chừng 180 µm, thành tế bào một bên tương đối dày, có vân sọc dày đặc hơn phía bên kia, nhìn bề mặt hình trứng, hình hơi tròn, hình lục giác, hình đa giác hoặc gần vuông, ở thành tế bào đáy có lỗ lớn, mật độ tương đối dày.

Sơn đào nhân: Tế bào đá màu vàng nhạt, vàng cam hoặc cam đỏ, nhìn phía ngoài có hình vỏ ốc, hình dải hoặc hình bầu dục, cao 81 µm đến 279 µm, rộng khoảng 128 µm đến 198 µm, nhìn phía bề mặt có hình hơi tròn, hình lục giác, đa giác dài hoặc hơi vuông, thành dày, thành tế bào đáy dày, không đều, có lỗ nhỏ.

Độ ẩm

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch quả chín vào mùa hè hoặc mùa thu, loại bỏ phần thịt, xay vỡ hạch lấy hạt bên trong, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Đào nhân: Loại bỏ tạp chất, khi dùng giã nát.

Đàn đào nhân: Lấy đào nhân sạch, loại bỏ tạp chất, cho vào nước sôi, đun đến khi vỏ lụa nhả lại, thì vớt ra ngâm vào nước ấm, chà sát cho tách riêng vỏ ngoài, phơi khô, khi dùng giã nát.

Đào nhân sao: Đào nhân rửa sạch, để ráo nước, cho vào chảo, đun nhỏ lửa, đảo đều đến khi có màu vàng. Khi dùng giã nát.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, trong lọ đậy kín, có lót chất hút ẩm, tránh sâu mọt.

Tính vị, qui kinh

Khô, cam, bình. Vào các kinh tâm, can.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết, khứ ú, nhuận tràng. Chủ trị: Vô kinh, mất kinh, trung hà, sưng đau do sang chấn, táo bón.

Cách dùng liều lượng

Ngày dùng từ 4,5 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Có thai không nên dùng.

ĐẬU ĐEN (Hạt)**Semen Vignae cylindricae**

Hạt đã phơi khô của cây Đậu đen [*Vigna cylindrica* (L.) Skeels], họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Hạt hình thận, vỏ màu đen bóng có chiều dài 6 mm đến 9 mm có chiều ngang từ 5 mm đến 7 mm, chiều dẹt 3,5 mm đến 6 mm. Rốn hạt màu sáng trắng. Trọng lượng hạt từ 106 mg đến 115 mg. Hạt dễ vỡ thành 2 mảnh lá mầm. Đầu của 2 mảnh hạt có chứa 2 lá chồi, 1 trụ mầm.

Bột

Mảnh mô mềm chứa các hạt tinh bột, thành tế bào màu đen. Hạt tinh bột hình thận dài 15 µm đến 30 µm, rộng 10 µm đến 18 µm, rốn một vạch hay phân nhánh, có vân tăng trưởng mờ. Mảnh vỏ gồm các tế bào nhỏ màu đen. Rải rác có các mảnh mạch nhỏ.

Định tính

Lấy khoảng 1 g dược liệu, thêm 10 ml nước, đun sôi cách thủy trong 10 phút. Để nguội, lọc. Lấy 5 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm. Thêm 1 ml dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT), dung dịch chuyển sang màu đỏ. Tiếp tục thêm 1 ml dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT), dung dịch chuyển sang màu xanh đen.

Protein toàn phần

Cân chính xác 0,2 g bột dược liệu đã xác định độ ẩm cho vào bình Kjeldahl rồi tiến hành theo phương pháp Định lượng nitrogen trong hợp chất hữu cơ (Phụ lục 10.9).

Song song tiến hành làm mẫu trắng.

Hàm lượng protein toàn phần được xác định theo công thức:

$$X \% = \frac{(a - b) \times 0,0014 \times 5,07}{m \times (100 - d)} \times 100 \times 100$$

Trong đó:

a là thể tích *dung dịch NaOH 0,1 N (CĐ)* dùng để chuẩn độ mẫu trắng (ml);

b là thể tích *dung dịch NaOH 0,1 N (CĐ)* dùng để chuẩn độ mẫu thử (ml);

m là khối lượng mẫu thử tính bằng g;

d là độ ẩm của mẫu thử;

0,0014 là hệ số tính chuyển lượng nitrogen tương ứng 1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N*;

5,07 là hệ số chuyển đổi nitrogen ra protein.

Dược liệu phải có hàm lượng protein không được dưới 25,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Độ ẩm

Không quá 10 % (Phụ lục 9.6).

Kích thước hạt

Toàn bộ hạt đậu đen qua rây số 7000 (đường kính lỗ mắt rây 7 mm). Số lượng hạt đậu đen qua rây 5000 không vượt quá 25 % (đường kính lỗ mắt rây 5 mm). Tất cả các hạt đậu đen không qua rây số 4000 (đường kính lỗ mắt rây 4 mm).

Tro toàn phần

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 0,15 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 0,1 % (Phụ lục 12.11).

Độ sượng

Cân 50 g dược liệu cho vào cốc có dung tích 250 ml, đổ ngập nước, đun sôi cách thủy trong 60 phút. Lấy 100 hạt bất kỳ rồi bóp trên 2 đầu ngón tay, đếm số hạt không bóp được. Độ sượng (là phần trăm hạt không bóp được) không được vượt quá 8 % (hạt/hạt).

Xác định độ nhiễm côn trùng

Cân khoảng 65 g dược liệu cho lên mặt sàng, nhúng cả sàng vào dung dịch chứa 10 g *kali iodid (TT)* và 5 g *iod (TT)* vừa đủ trong 500 ml nước. Tiếp đó nhúng cả sàng vào *dung dịch kali hydroxyd 0,5 % (TT)*. Lấy dược liệu ra khỏi sàng và rửa bằng nước lạnh trong 20 giây. Không được thấy vết đen hoặc lỗ đen trên bề mặt hạt (không được nhiễm côn trùng).

Chế biến

Thu hoạch vào tháng 6 hoặc tháng 7, chọn những quả già vỏ đã ngả màu đen, đem phơi khô và đập tách lấy riêng hạt. Tiếp tục phơi khô hạt đến độ ẩm qui định.

Bào chế

Đạm đậu sị: Lấy đậu đen vo sạch, ngâm nước thường 1 đêm. Phơi qua rây cho ráo nước, đồ chín. Trải đều trên nong nia hoặc trên chiếc chiếu sạch, đợi ráo lấy lá chuối khô sạch ủ kín 3 ngày, khi thấy lên meo vàng đem phơi khô ráo, tưới nước cho đủ ẩm, cho vào thùng ủ kín bằng lá dậu. Khi lên meo vàng thì lấy ra phơi 1 giờ lại tưới nước và ủ như trên. Làm như vậy cho đủ 5 đến 7 lần.

Cuối cùng đem chưng rồi phơi khô và cho vào bình đậy kín để dùng trong các bài thuốc.

Bảo quản

Đóng trong thùng kín, để nơi khô mát tránh mốc mọt, côn trùng.

Tính vị, qui kinh

Cam, bình. Qui vào kinh thận.

Công năng, chủ trị

Trừ phong, thanh thấp nhiệt, lương huyết, giải độc, lợi tiểu tiện, tư âm, dùng bổ thận, sáng mắt, trừ phù thũng do nhiệt độc, giải độc.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 20 g đến 40 g, có thể hơn. Dùng để chế đậu sị và phụ liệu.

Kiểm kê

Tỳ vị hư hàn mà không nhiệt độc không dùng. Ghét Long đởm, kỵ Hậu phác.

ĐẬU VÁN TRẮNG (Hạt)**Semen Lablab****Bạch biến đậu**

Hạt già phơi hay sấy khô của cây Đậu ván trắng [*Lablab purpureus* (L.) Sweet], họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Hạt hình bầu dục hoặc hình trứng, dẹt, dài 8 mm đến 13 mm, rộng 6 mm đến 9 mm, dày 4 mm. Vỏ ngoài màu trắng ngà, hoặc màu vàng, đôi khi có chấm đen, hơi nhẵn bóng, ở mép có một vòng màu trắng là mòng chiếm 1/3 đến 1/2 chiều dài hạt. Chất cứng chắc, vỏ mỏng giòn, có 2 lá mầm to màu trắng ngà. Mùi nhẹ, vị nhạt, khi nhai có mùi tanh của đậu.

Vĩ phẫu

Biểu bì gồm một lớp tế bào xếp đều đặn (giống mô giậu) và 2 lớp ở rốn hạt có hình hơi cong, tế bào nâng của 1 lớp hình quả tạ, có 3 đến 5 hàng tế bào nâng ở rốn hạt. Mô mềm gồm 10 hàng tế bào nằm dưới hàng

tế bào nâng, lớp trong của nó bị tiêu đi. Các tế bào lá mầm chứa nhiều tinh bột. Ở phía ngoài lớp tế bào biểu bì (giống mô giậu) ở rốn hạt có mỏng, ở phía trong có các đám quản bào, thành dày có hình mạng với các mô hình sao ở hai bên, khoảng giữa tế bào hình sao có những khoang chứa chất màu nâu.

Bột

Màu trắng ngà, miết lên tay thấy hơi nhờn, vị bùi, để lâu có mùi tanh gây buồn nôn. Nhiều hạt tinh bột kích thước lớn, hình trứng hay trái xoan, có rốn rách ở giữa. Mảnh mô mềm của lá mầm chứa nhiều hạt tinh bột. Mảnh vỏ hạt với tế bào dài dẹt. Mảnh tế bào rễ mầm hình chữ nhật hoặc hơi tròn, nhỏ, đều đặn.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Tỷ lệ hạt non, lép không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, đông, hái các quả chín phơi khô lấy hạt, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Bạch biến đậu sống: Loại bỏ tạp chất xay vỡ hoặc giã dập khi dùng.

Bạch biến đậu sao: Lấy Bạch biến đậu sạch cho vào chảo sao nhỏ lửa (lửa vắn) cho đến khi bề mặt thuốc có màu vàng nhạt thỉnh thoảng có đốm đen xay vỡ hoặc giã dập khi dùng.

Bảo quản

Nơi khô ráo, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, vị ôn. Quy vào các kinh tỷ, vị.

Công năng, chủ trị

Kiện tỷ hòa trung, giải thử hóa thấp, giải độc rượu. Chủ trị: Tỷ vị hư nhược, kém ăn, đại tiện lỏng, bạch đới, nôn mửa, tiết tả, say rượu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, phối hợp trong các bài thuốc.

ĐẬU XANH (Hạt)

Semen Vignae aurei

Hạt đã phơi khô của cây Đậu xanh *Vigna aureus* (Roxb.) N.D.Khoi, Họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Hạt hình trụ màu xanh lục sáng có chiều dài 4 mm đến 6 mm, đường kính 3,5 mm đến 4,5 mm. Rốn hạt chạy dọc theo chiều dài hạt có màu sáng trắng. Trọng lượng hạt từ 61 mg đến 65 mg. Hạt dễ vỡ thành 2 mảnh lá mầm. Một đầu 2 mảnh hạt có chứa 2 lá chồi, 1 trụ mầm.

Bột

Hạt tinh bột hình trứng dài 15 μm đến 32 μm rộng 10 μm đến 15 μm. Các mảnh ngắn hình chữ nhật sáng màu. Mảnh vỏ cấu tạo từ các tế bào nhỏ màu xanh lục.

Protein toàn phần

Cân chính xác 0,2 g bột được liệu đã tán bột và xác định độ ẩm. Cho vào bình Kjeldahl rồi tiến hành theo phương pháp Định lượng nitrogen trong hợp chất hữu cơ (Phụ lục 10.9).

Song song tiến hành làm mẫu trắng.

Hàm lượng protein toàn phần được xác định theo công thức:

$$X \% = \frac{(a - b) \times 0,0014 \times 5,07}{m \times (100 - d)} \times 100 \times 100$$

Trong đó:

a là thể tích *dung dịch NaOH 0,1 N (CD)* dùng để chuẩn độ mẫu trắng (ml);

b là thể tích *dung dịch NaOH 0,1 N (CD)* dùng để chuẩn độ mẫu thử (ml);

d là độ ẩm của mẫu thử;

m là khối lượng mẫu thử tính bằng g;

0,0014 là hệ số tính chuyển lượng nitrogen tương ứng

1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N*;

5,07 là hệ số chuyển đổi nitrogen ra protein.

Dược liệu phải có hàm lượng protein toàn phần không được dưới 23,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 3,6 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 0,26 % (Phụ lục 9.7).

Kích thước hạt

Toàn bộ đậu xanh qua rây số 5000 (đường kính lỗ mắt rây 5 mm) và số lượng đậu xanh qua rây số 4000 không được vượt quá 3 % (đường kính lỗ mắt rây 4 mm).

Tạp chất

Không quá 0,1 % (Phụ lục 12.11).

Độ sượng

Lấy 50 g đậu xanh cho vào cốc dung tích 250 ml đổ ngập nước, đập nắp, đun sôi cách thủy trong 60 phút. Lấy 100 hạt bất kỳ bóp trên 2 đầu ngón tay. Đếm số hạt không bóp được. Độ sượng (là phần trăm hạt không bóp được) không vượt quá 17 % (hạt/hạt).

Xác định độ nhiễm côn trùng

Cân khoảng 30 g dược liệu, cho lên mặt sàng và nhúng cả sàng vào dung dịch chứa 10 g *kali iodid (TT)*

và 5 g *iod* (TT) trong vừa đủ 500 ml nước. Tiếp đó nhúng cả sàng vào *dung dịch kali hydroxyd* 0,5 % (TT). Lấy hạt ra khỏi sàng và rửa mẫu bằng nước lạnh trong 20 giây. Không được thấy vết đen hoặc lỗ đen trên bề mặt (không được nhiễm côn trùng).

Chế biến

Thu hoạch vào tháng 5 hoặc tháng 6, chọn những quả đậu xanh già vỏ đã ngả màu đen hoàn toàn. Dem phơi khô và đập tách lấy riêng hạt đậu xanh. Tiếp tục phơi khô đến độ ẩm quy định.

Bảo quản

Đóng trong thùng kín để nơi khô thoáng mát tránh mốc mọt, sâu bọ, côn trùng.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn. Quy vào kinh vị, đại tràng, tâm, vị.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt trừ thử, chỉ khát, lợi niệu, giải các loại độc. Chủ trị: Tả lỵ, phù thũng, ngộ độc các chất và thuốc, thử nhiệt và khát nước.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 12 g đến 20 g, có thể hơn. Dùng riêng hoặc trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Không thực nhiệt thì không dùng. Không dùng chung với Phỉ tử (Hạt họ).

ĐỊA CỐT BÌ

Cortex Lycii

Vỏ rễ phơi hay sấy khô của cây Câu kỷ (*Lycium chinense* Mill.) hay cây Ninh hạ câu kỷ (*Lycium barbarum* L.), họ Cà (Solanaceae).

Mô tả

Dược liệu là những mảnh vỏ cuộn tròn hình ống nhỏ hoặc hình máng, dài 3 cm đến 10 cm, rộng 0,5 cm đến 1,5 cm, dày 1 mm đến 3 mm. Mặt ngoài màu vàng xám đến vàng nâu, xù xì, với những đường vân nứt dọc, không đều, dễ bóc; mặt trong màu vàng nhạt đến vàng xám, tương đối nhẵn, có vân dọc nhỏ. Chất nhẹ và giòn, dễ bẻ gãy, mặt gãy không phẳng, lớp ngoài màu vàng nâu, lớp trong màu trắng xám. Mùi nhẹ, vị hơi ngọt sau đắng.

Vĩ phẫu

Lớp bên có 4 đến 10 hàng tế bào hoặc hơn. Tế bào mô mềm vỏ chứa tinh thể calci oxalat dạng cát tụ tập thành đám với nhiều hạt tinh bột. Đa số các bó tia libe phân cách bởi 1 hàng tế bào rộng; sợi đơn độc và rải rác, hoặc có 2 hay nhiều sợi hợp thành đám.

Tro toàn phần

Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.8).

Độ ẩm

Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tỷ lệ vụn nát

Mảnh dưới 1,5 cm: Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến

Thu hoạch vào đầu xuân và cuối thu, đào lấy rễ, rửa sạch, bóc lấy vỏ, phơi hoặc sấy khô, hoặc rửa sạch rễ, cắt thành từng đoạn 6 cm đến 12 cm, dùng dao rạch đến gỗ, cho vào đồ, vỏ rễ bong ra, lấy vỏ đem phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất và lõi gỗ còn sót lại, rửa sạch, phơi khô, cắt đoạn.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn. Vào các kinh phế, can, thận.

Công năng, chủ trị

Lương huyết, trừ cốt chùng, thanh phế, giáng hỏa. Chủ trị: Âm hư, sốt về chiều, cốt chùng, đạo hàn, phế nhiệt, ho khạc máu, nội nhiệt tiêu khát.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g. Dạng thuốc sắc.

ĐỊA DU (RỄ)

Radix Sanguisorbae

Rễ phơi hoặc sấy khô của cây Địa du (*Sanguisorba officinalis* L.) hay cây Địa du lá dài [*Sanguisorba officinalis* L. var. *longifolia* (Bert.) Yu et Li], họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả

Rễ hình thoi hoặc hình trụ không đều, hơi cong queo hoặc vặn, dài 5 cm đến 25 cm, đường kính 0,5 cm đến 2 cm, mặt ngoài màu nâu tro, màu nâu hoặc tía thẫm, thô, có nếp nhăn dọc, có vân nứt ngang và vết rễ con. Chất cứng. Mặt bề tương đối phẳng, vỏ có nhiều sợi dạng bông, từ màu trắng vàng đến màu nâu vàng, gỗ màu vàng hoặc nâu vàng, tia gỗ xếp thành hàng xuyên tâm. Lát cắt hình tròn hay hình bầu dục không đều, dày 0,2 cm đến 0,5 cm, mặt cắt màu đỏ tía hoặc nâu. Không mùi, vị hơi đắng, sần.

Vĩ phẫu

Lớp bên gồm nhiều hàng tế bào dài xếp theo hướng tiếp tuyến, thường màu vàng nâu. Mô mềm vỏ rộng, tế bào mô mềm tương đối đều, gần tròn hoặc bầu dục. Trong mô mềm có các khoảng gian bào lớn. Tia ruột nhiều, hẹp, thường có một dãy tế bào. Tầng phát sinh libe-gỗ thấy rõ. Rải rác trong mô mềm gỗ có những mạch gỗ to và những đám sợi mô cứng. Trong tế bào

mô mềm có hạt tinh bột và tinh thể calci oxalat to, hình cầu gai.

Bột

Màu xám, vị hơi đắng. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột hình tròn hoặc hình bầu dục, đơn, kép đôi, ít khi kép ba hoặc kép bốn. Mảnh mô mềm có chứa hạt tinh bột, đôi khi thấy cả tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh mạch, mảnh bản màu vàng, tế bào có chiều dài gấp hai đến ba lần chiều rộng. Tinh thể calci oxalat đứng riêng lẻ.

Định tính

A. Lấy 2 g dược liệu thêm 20 ml *ethanol* (TT), đun hồi lưu trên cách thủy khoảng 10 phút, lọc. Điều chỉnh pH dịch lọc đến pH 8 đến 9 bằng *dung dịch amoniac loãng* (TT), lọc. Phân kết tủa để riêng (tủa 1). Lấy dịch lọc, bốc hơi đến khô. Hòa tan cạn trong 10 ml *nước*, lọc. Lấy 5 ml dịch lọc đem bốc hơi đến khô, thêm 1 ml *anhydrid acetic* (TT) và 2 giọt *acid sulfuric* (TT) xuất hiện màu tím đỏ để lâu sẽ biến thành màu nâu.

B. Lấy một ít tủa 1, thêm 2 ml *nước* và 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 %* (TT) sẽ có màu lam sẫm đen.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Rễ màu nâu, đen: Không quá 10,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu, qua rây số 355, tiến hành phương pháp định lượng taninoid (Phụ lục 12.6). Hàm lượng taninoid trong dược liệu không được dưới 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Mùa xuân, khi cây sắp nảy chồi, hoặc mùa thu sau khi cây khô, đào lấy rễ, loại bỏ rễ con, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô, hoặc thái phiến rồi phơi khô.

Bào chế

Địa du phiến: Rửa sạch rễ Địa du, loại bỏ tạp chất, thân cây còn sót lại, ủ mềm, thái lát dày, phơi hoặc sấy khô để dùng.

Địa du tán sao: Lấy Địa du đã thái lát, sao lửa to đến khi mặt ngoài có màu đen sém và bên trong có màu vàng hay màu nâu. Lấy ra để nguội.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, trong bao bì kín, tránh sâu, mọt.

Tính vị qui kinh

Khô, toan, sáp, vị hàn. Vào các kinh can, đại trường.

Công năng, chủ trị

Lương huyết chỉ huyết, giải độc, liễm nhọt. Chủ trị: Đại tiểu tiện ra máu, trĩ ra máu, lỵ ra máu, băng huyết, rong huyết, bông nước, bông lửa, mụn nhọt thũng độc.

Cách dùng liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g. Dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài: Lượng thích hợp, tán bột đắp nơi bị đau.

ĐỊA HOÀNG (RỄ)

Radix Rhemanniae glutinosae

Sinh địa

Rễ củ tươi hay sấy khô của cây Địa hoàng [*Rhemannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch.], họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae).

Mô tả

Sinh địa hoàng (Địa hoàng tươi): Hình thoi hoặc dài dài 8 cm đến 24 cm, đường kính 2 cm đến 9 cm. Vỏ ngoài mỏng, mặt ngoài màu vàng đỏ nhạt, có vết nhăn dài, cong và có vết tích của mầm. Lỗ vỏ dài nằm ngang, có các vết sọc không đều. Chất thịt, dễ bẻ, trong vỏ rải rác có các chấm dầu màu trắng vàng hoặc đỏ cam, phần gỗ màu trắng vàng với các dây mạch xếp theo kiểu xuyên tâm. Mùi thơm nhẹ, vị hơi ngọt đắng.

Can địa hoàng (Địa hoàng khô): Củ khô hình dạng không đều hoặc hình thuôn, khoảng giữa phình to, hai đầu hơi nhỏ, dài 6 cm đến 12 cm, đường kính 3 cm đến 6 cm. Loại củ nhỏ hình dài hơi dẹt, cong queo hoặc xoắn lại, mặt ngoài màu nâu đen hoặc xám nâu, nhăn nheo nhiều, có các đường vân lượn cong nằm ngang không đều. Thể nặng, chất tương đối mềm, dai, khó bẻ gãy. Mặt bẻ màu nâu đen hoặc đen bóng, dính, mùi thơm nhẹ, vị hơi ngọt.

Vĩ phẫu

Lớp vỏ gồm nhiều hàng tế bào hình chữ nhật. Mô mềm bao gồm các tế bào thành mỏng, các tế bào tiết với chất tiết màu hồng. Trong libe cũng có tế bào tiết nhưng ít gặp hơn. Libe-gỗ cấp 2 khá phát triển. Mạch rây gần tầng sinh libe-gỗ. Tầng sinh libe-gỗ xếp thành vòng liên tục. Gỗ cấp 2 chạy vào đến tâm, gồm những bó gỗ thưa và phân cách bởi tia ruột rộng, gồm nhiều hàng tế bào.

Bột

Can địa hoàng. Bột màu nâu thẫm. Mảnh bản màu nâu nhạt, nhìn từ mặt bên gồm các tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn, tế bào mô mềm gần tròn, tế bào tiết chứa giọt dầu màu vàng cam hay đỏ cam, mạch mạng đường kính tới 92 µm.

Định tính

A. Cho 0,5 g dược liệu cắt nhỏ vào 1 bình nón 50 ml, thêm 25 ml *nước* nóng, đun tiếp trong cách thủy trong

30 phút. Lọc lấy 5 ml dịch lọc, thêm 1 ml *thuốc thử Fehling A (TT)* và 1 ml *thuốc thử Fehling B (TT)*, đun trong cách thủy 30 phút, sẽ thấy xuất hiện tủa màu đỏ gạch.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (14 : 6 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 2 g dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu cách thủy 1 giờ, lọc lấy dịch lọc và cô còn khoảng 5 ml.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Địa hoàng (mẫu chuẩn), chiết cùng điều kiện như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng một bản mỏng 5 μ l dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, phun *thuốc thử anisaldehyd (TT)* và sấy ở 105 °C trong

5 phút đến 10 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 16,0 % (với can địa hoàng) (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu hoặc mùa xuân, đào lấy rễ, loại bỏ thân, lá, rễ con, rửa sạch, dùng tươi là Sinh địa hoàng hoặc sấy nhẹ cho khô là Can địa hoàng.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm (can địa hoàng), thái lát dày, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Sinh địa hoàng: Vui trong cát, tránh giá lạnh khô cứng. Can địa hoàng: Để nơi thoáng, khô, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Sinh địa hoàng: Cam, khô, hàn. Vào các kinh tâm, can, thận.

Can địa hoàng: Cam, hàn. Vào các kinh tâm, can, thận.

Công năng, chủ trị

Sinh địa hoàng: Thanh nhiệt, lương huyết. Chủ trị: Ôn bệnh vào dinh huyết, hầu họng sưng đau, huyết nhiệt làm khô tân dịch gây chảy máu (máu cam, nôn máu, ban chân...).

Can địa hoàng: Tư âm dưỡng huyết. Chủ trị: Huyết hư gây nóng sốt, nôn máu, máu cam, băng huyết, kinh nguyệt không đều, động thai.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 24 g. Dạng thuốc sắc.

ĐỊA LIỀN (Thân rễ)

Rhizoma Kaempferiae galangae

Thiên liên, Lương khương

Thân rễ đã thái miếng phơi hay sấy khô của cây Địa liên (*Kaempferia galanga L.*), họ Gừng (Zingiberaceae).

Mô tả

Phiến dày khoảng 2 mm đến 5 mm, đường kính 0,6 cm trở lên, hơi cong lên. Mặt cắt màu trắng ngà có khi hơi ngà vàng. Xung quanh là vỏ ngoài màu vàng nâu hoặc màu tro nhạt, nhẵn nhéo, có khi còn sót lại rễ con hoặc vết tích rễ con. Thê chất giòn dễ bẻ, có bột. Mùi thơm đặc trưng, vị cay.

Vi phẫu

Lớp vỏ gồm 8 đến 15 hàng tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình nón hay nhiều cạnh, thành mỏng, chứa hạt tinh bột, rải rác có các bó libe-gỗ nhỏ. Vòng nội bì khung caspari liền với vòng trụ bì. Mô mềm ruột gồm tế bào thành hơi dày chứa nhiều hạt tinh bột và rải rác có các bó libe-gỗ. Tế bào chứa tinh dầu có cả ở mô mềm vỏ và mô mềm ruột.

Bột

Bột màu trắng ngà. Soi dưới kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột hình gần như ba cạnh, hình trứng hay hình tròn, đường kính 5 μ m đến 30 μ m, có rỗ và vân mờ. Mảnh mô mềm với tế bào chứa tinh bột, hoặc kèm theo tế bào chứa tinh dầu màu vàng. Mảnh bản màu nâu nhạt, mảnh mạch vạch.

Định tính

A. Ngâm 1 g bột dược liệu với 5 ml *ether ethylic (TT)* trong 15 phút, thỉnh thoảng lắc, lọc. Dịch lọc bay hơi đến cạn. Thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu nâu đỏ đến tím.

B. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*. Đun cách thủy 20 phút, để nguội và lọc.

Lấy 1 ml dịch lọc cho vào một ống nghiệm, thêm từ từ 1 ml *acid sulfuric (TT)* xuống đáy ống. Vòng tiếp xúc giữa 2 lớp chất lỏng có màu nâu đỏ, sau chuyển sang nâu tím.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm từ từ 1 ml *dung dịch natri carbonat 5 % (TT)*. Đun cách thủy 3 phút, để nguội thêm 1 giọt đến 2 giọt *thuốc thử diazo (TT)* sẽ có màu đỏ cam.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (18 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,25 g dược liệu, thêm 5 ml *methanol (TT)*, siêu âm 10 phút, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,25 g Địa liên (mẫu chuẩn), chiết cùng điều kiện như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng một bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, để

khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g dược liệu đã tán nhỏ.

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp “Định lượng tinh dầu trong dược liệu” (Phụ lục 12.7). Lấy 30 g dược liệu, thêm 300 ml nước, cất trong 3 giờ.

Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu không ít hơn 2,4 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Đào lấy thân rễ, rửa sạch, thái phiến mỏng, phơi khô. Khi dùng vì sao.

Bảo quản

Đề nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào hai kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Ôn trung tiêu, tán hàn, trừ thấp, kiện tỳ vị. Chủ trị: Tê thấp, đau nhức xương khớp, nhức đầu, răng đau, ngực bụng lạnh đau, tiêu hóa kém.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 8 g, dạng thuốc sắc, bột hoặc viên. Ngâm rượu trong 5 đến 7 ngày, lượng thích hợp, để xoa bóp. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiểm kê

Âm hư, thiếu máu hoặc vị có hòa uất không dùng.

ĐỊA LONG

Pheretima

Giun đất

Toàn thân đã phơi hay sấy khô của con Giun [*Pheretima aspergillum* (E. Perrier), *Pheretima vulgaris* Chen., *Pheretima guillelmi* (Michaelsen), hay *Pheretima pectinifera*], họ Cự dân (Megascolecidae). Loại đầu tiên là Quảng địa long, 3 loại còn lại là Hồ địa long.

Mô tả

Quảng địa long: Là những lát mỏng có dạng như mái ngói, cong, bìa hơi cuộn, dài 15 cm đến 20 cm, rộng 1 cm đến 2 cm, toàn thân chia thành nhiều đốt. Mặt ngoài phần lưng có màu nâu đến xám tím, ở phần bụng có màu nâu vàng nhạt. Lỗ sinh thực nằm ở đốt thứ 14 đến 16, màu tương đối sáng. Thắt lại ở phần đầu, bè ra và tròn ở phần đuôi. Lông tơ ngắn, thô và rất cứng, màu hơi sáng. Lỗ sinh thực đực nằm ở phần nhô ra ở phần bụng của đốt thứ 18, phía ngoài được bao quanh bởi nhiều vòng cấu tạo từ những nếp nhăn cựa trên da, có 1 đến 2 dây khối u nhỏ ở hai bên của phần trước, mỗi bên có khoảng 10 đến 20 cái, số lượng thay đổi. Lỗ nang thụ tinh gồm 2 đôi ở giữa đốt 7 đến 8/9, vòng sinh thực chiếm giữa các đốt 5 đến 11 hình đai yên ngựa. Thể chất nhẹ, dai, khó bẻ gãy. Mùi hôi khó chịu, vị hơi mặn.

Hồ địa long: Dài 8 cm đến 15 cm, rộng 0,5 cm đến 1,5 cm, toàn thân chia thành nhiều đốt. Phần lưng màu nâu đến nâu vàng, phần bụng màu nâu vàng sáng, 3 đôi lỗ nang thụ tinh ở đốt 6/7 đến 8/9. Lỗ sinh thực cái ở đốt 14 đến 16, màu tương đối sáng. Một đôi lỗ sinh thực đực nằm ở đốt thứ 18.

Loài *Pheretima vulgaris* có lỗ sinh thực lộ ra hoàn toàn, có hình bông cải hoặc hình dương vật, loài *Pheretima guillelmi* chẻ theo chiều dọc, loài *Pheretima pectinifera* có một hay nhiều lỗ sinh thực đực với một hay nhiều nhú ở bên trong.

Bột

Bột có màu xám hay vàng xám. Soi kính hiển vi thấy: Sợi cơ có sọc không màu hay màu nâu nằm rải rác hay dính đôi, đường kính 4 μm đến 25 μm mép thường không thẳng. Tế bào biểu bì màu nâu vàng, tế bào mô mềm chứa các hạt chất màu nâu sẫm.

Thỉnh thoảng có lông tơ thường bị vỡ nằm rải rác, màu nâu nhạt hay vàng nâu đường kính 24 μm đến 32 μm, đầu to, ngắn.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: *n*-Butanol - acid acetic băng - nước (4 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Đun sôi 1 g dược liệu trong 10 ml nước, để nguội, ly tâm lấy phần dung dịch trong dùng làm dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan các chất đối chiếu lysin, leucin và valin trong nước để có các dung dịch lần lượt có hàm lượng là 1 mg, 1 mg và 0,5 mg trong 1 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 μl dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch ninhydrin (TT), sấy ở 105 °C cho đến

khi xuất hiện vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Toluen - methanol* (95 : 5).

Dung dịch thử: Lấy 1 g dược liệu, thêm 20 ml *cloroform* (TT), siêu âm trong 20 phút, lọc, để bay hơi trên cách thủy đến khô. Hòa tan cần trong 1 ml *cloroform* (TT) được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Địa long (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng

Không quá 30 phần triệu [Phụ lục 9.4.8, phương pháp 3, lấy 1 g bột dược liệu để thử. Dùng 3,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu].

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 16,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến

Loại Quảng địa long được thu hoạch từ mùa xuân đến mùa thu. Hồ địa long được thu hoạch vào mùa hạ. Dùng lá Nghê rậm ngâm nước, đổ lên mặt đất, bắt lấy giun đất bò lên. Loại bỏ những con giun đất có bệnh. Làm cho sạch nhớt. Kẹp thẳng giun đất vào que nứa, mổ bụng ngay lập tức, moi bỏ phủ tạng và đất, lau sạch, phơi khô hay sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt đoạn và phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bảo quản

Nơi thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Hàm, hàn. Quy vào các kinh can, tỳ, phế, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, trấn kinh, thông kinh mạch, định suyễn, lợi thủy. Chủ trị: Sốt cao bất tỉnh, kinh giãn, thấp tỳ,

tê chi, bán thân bất toại, ho và suyễn do phế thực nhiệt, phù, vô niệu, cao huyết áp.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4,5 g đến 9 g, dạng bột. Thường phối hợp trong các bài thuốc.

Kiểm kê

Không dùng cho người hư hàn.

ĐINH HƯƠNG (Nụ hoa)

Flos Syzygii aromatici

Nụ hoa đã phơi hay sấy khô của cây Đinh hương [*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill et Perry], họ Sim (Myrtaceae).

Mô tả

Nụ hoa giống như một cái đinh, màu nâu sẫm, bao gồm phần bầu dưới của hoa hình trụ, dài 10 mm đến 12 mm, đường kính 2 mm đến 3 mm và một khối hình cầu có đường kính 4 mm đến 6 mm. Ở phía dưới bầu đôi khi còn sót lại một đoạn cuống hoa ngắn, phía trên có 4 lá đài dày, hình 3 cạnh, xếp chéo chữ thập. Khối hình cầu gồm 4 cánh hoa chưa nở, xếp úp vào nhau. Bóc cánh hoa thấy bên trong có nhiều nhị, giữa có một vòi nhụy, thẳng, ngắn.

Vì phẫu

Mặt cắt ngang bầu hoa có hình elip hoặc tròn, quan sát từ ngoài vào trong thấy: Biểu bì uốn lượn, gồm một lớp tế bào, bên ngoài có tầng cutin dày, rải rác có lỗ khí. Phần mô mềm: Mô mềm ở phía ngoài cấu tạo bởi các tế bào thành mỏng thường bị ép bẹt, có nhiều túi chứa tinh dầu hình trứng xếp thành 2 đến 3 vòng. Mô mềm phía trong cấu tạo bởi các tế bào đa giác, có chứa nhiều bó libe-gỗ, mỗi bó có gỗ ở giữa, libe bao quanh, bên ngoài libe là sợi hoặc các đám sợi.

Phần mô khuyết: Các tế bào thành mỏng nối tiếp nhau tạo thành mạng lưới, và những khuyết lớn.

Phần trụ giữa: Bên ngoài là một vài hàng tế bào mô mềm có chứa nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai; bó libe-gỗ là các vòng liên tục, gỗ ở trong, libe ở ngoài, trong cùng là phần mô mềm có chứa nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Bột

Bột màu nâu sẫm, mùi thơm hắc, vị cay. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh mô mềm của bầu hoa có túi chứa tinh dầu hình cầu lớn, đường kính 80 μ m đến 100 μ m, mảnh biểu bì có mang lỗ khí, sợi ngắn, thành dày, khoang hẹp đứng riêng lẻ hay hợp thành bó 2 sợi đến 3 sợi; hạt phấn hoa hình 3 cạnh, màu vàng nhạt, đường kính 15 μ m đến 20 μ m; mảnh cánh hoa gồm nhiều tế bào thành mỏng; nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai nằm trong tế bào hoặc đứng riêng lẻ bên ngoài; mảnh mạch xoắn riêng lẻ hay tập trung thành bó; các tế bào mô cứng.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Loại Đinh hương đã nở hoa, cuống hoa: Không quá 4,0 %.

Loại thứ phẩm: Không quá 2,0 %.

Các chất lạ khác: Không quá 0,5 %.

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng tinh dầu

Lấy chính xác khoảng 5 g dược liệu đã được tán thành bột thô, cho vào bình cầu 250 ml, thêm 100 ml *nước cất*. Dùng 0,50 ml *xylol* (TT); cất trong 4 giờ. Dược liệu phải chứa ít nhất 15% tinh dầu (Phụ lục 12.7).

Chế biến

Thu hái khi nụ hoa có màu đỏ sẫm, loại bỏ tạp chất và cắt bỏ phần cuống hoa, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Đóng gói trong bao bì kín, để nơi khô, mát, tránh ánh sáng.

Tính vị, qui kinh

Tân ôn. Vào các kinh phế, tỳ, vị, thận.

Công năng, chủ trị

Ôn trung, ôn thận, giáng nghịch. Chủ trị: Nấc, đau bụng, ỉa chảy, nôn mửa, liệt dương.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 1 g đến 4 g dưới dạng thuốc sắc, hoặc tán hoặc ngâm rượu (xoa bóp).

Kiểm kê

Không hư hàn không dùng, kỵ uất kim.

ĐINH LĂNG (RỄ)***Radix Polysciacis***

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Đinh lăng [*Polyscias fruticosa* (L.) Harms.], họ Nhân sâm (Araliaceae).

Mô tả

Rễ cong queo, thường được thái thành các lát mỏng, mặt cắt ngang màu vàng nhạt. Mặt ngoài màu trắng xám có nhiều vết nhăn dọc, nhiều lỗ vỏ nằm ngang và vết tích của các rễ con.

Vĩ phẫu

Mặt cắt ngang hình tròn, quan sát dưới kính hiển vi từ ngoài vào trong thấy: Lớp bên gồm nhiều hàng tế bào xếp đều đặn thành vòng đồng tâm và dãy xuyên tâm. Mô mềm vỏ, các tế bào thành mỏng, những lớp tế bào phía ngoài thường bị ép bẹp, trong mô mềm rải rác có tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Libe tạo thành vòng, bị tia tủy chia thành các bó hình nón, tầng phát sinh

libe-gỗ. Gỗ chiếm phần lớn diện tích vĩ phẫu, rễ càng già phần gỗ càng nhiều.

Bột

Bột màu vàng nhạt, thơm nhẹ, vị hơi ngọt. Soi dưới kính hiển vi thấy nhiều hạt tinh bột hình chuông, hình đa giác, đường kính 10 μm đến 20 μm đứng riêng lẻ, kép 2,3,4 hay tụ tập thành khối. Mảnh bản, các mảnh mạch mạng, mạch vạch, Tinh thể calci oxalat hình cầu gai đường kính 45 μm đến 70 μm. Mảnh mô mềm thường chứa tinh bột.

Định tính

A. Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *nước cất*, lắc mạnh trong 1 phút, sẽ thấy bột bền trong 10 phút.

B. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol* 90% (TT), ngâm trong 3 giờ, lắc, lọc. Lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm nhỏ, thêm 0,5 ml *anhydrid acetic* (TT), thêm từ từ 0,5 ml *acid sulfuric* (TT), tại lớp phân cách giữa hai dung dịch xuất hiện vòng màu đỏ.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *thuốc thử Fehling* (TT), đun sôi, xuất hiện tủa đỏ gạch.

C. Lấy một ít bột dược liệu đặt trên khay sứ, nhỏ thêm 1 giọt *dung dịch Lugol* (TT), bột chuyển sang màu xanh đen.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Tạp chất: Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 5,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 90 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hái, rửa sạch đất cát, thái lát, phơi hoặc sấy khô.

Chế biến

Thu hoạch rễ vào mùa thu-đông sau khi cây trồng được 7 năm đến 10 năm. Đào lấy rễ, rửa sạch, bóc lấy vỏ rễ, thái lát, phơi khô.

Bào chế

Đinh lăng sống: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Đinh lăng chế rượu gừng và mật: Tầm rượu gừng 5 % vào Đinh lăng sống, trộn đều cho thấm rượu gừng, sao qua nhỏ lửa. Tầm thêm Mật ong, trộn đều cho thấm mật rồi sao vàng cho thơm. Dùng 5 lít rượu gừng 5 % và 5 kg Mật ong cho 100 kg dược liệu.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Ngọt, bình. Quy vào kinh phế, tỳ, thận.

Công năng, chủ trị

Bổ khí, lợi sữa, giải độc. Chủ trị: Suy nhược cơ thể và suy nhược thần kinh, tiêu hóa kém, kém ngủ, phụ nữ sau đẻ ít sữa, kém phát dục.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 1 g đến 6 g, dạng thuốc sắc hoặc 2 g trở lên với thuốc tán bột.

ĐỒ TRỌNG (Vỏ thân)

Cortex Eucommiae

Vỏ thân đã phơi hay sấy khô của cây Đỗ trọng (*Eucommia ulmoides* Oliv.), họ Đỗ trọng (*Eucommiaceae*).

Mô tả

Dược liệu là những miếng vỏ phẳng hoặc hai bên mép hơi cong vào, to nhỏ không đều, dày 0,2 cm đến 0,5 cm, màu xám tro. Mặt ngoài sần sùi, có nhiều nếp nhăn dọc và vết tích của cành con. Mặt trong vỏ màu sẫm, trơn, chất giòn, dễ bẻ gãy, mặt bẻ có nhiều sợi màu trắng ánh bạc, có tính đàn hồi như cao su. Vị hơi đắng.

Vì phẫu

Mặt cắt ngang dược liệu nhìn dưới kính hiển vi từ ngoài vào trong có: Lớp bên dày, có chỗ bị nứt rách gồm những tế bào dẹt màng hóa bản, xếp thành vòng đồng tâm và dây xuyên tâm. Mô mềm vỏ gồm nhiều hàng tế bào, các tế bào phía ngoài thường bị ép dẹt. Mô cứng xếp từng đám rải rác trong mô mềm vỏ, có cả trong libe. Libe cấp 2 dày có những đám sợi. Một số tế bào chứa nhựa nằm rải rác trong mô mềm vỏ, trong libe và trong mô cứng. Tia ruột có khoảng 2 đến 3 hàng tế bào, uốn lượn chạy từ tầng sinh libe-gỗ đến mô mềm vỏ. Trong cùng là tầng sinh libe-gỗ.

Bột

Bột màu nâu xám không mùi, vị hơi đắng. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bản gồm các tế bào hình đa giác. Mảnh mô mềm có các tế bào thành mỏng. Nhiều sợi nhựa dài, mảnh, ngoằn ngoèo, chụm thành từng đám màu trắng đục hoặc kéo dài như sợi dây. Mảnh mô cứng gồm những tế bào màu vàng, dài hoặc hình trái xoan, có khoang hẹp, có ống trao đổi rõ. Sợi libe có khoang hẹp.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *chloroform* (TT), ngâm 2 giờ. Lọc lấy dịch lọc, để bay hơi hết dung môi đến cạn, thêm vào cần 1 ml *ethanol* 96 % (TT), để yên khoảng 5 phút sẽ thấy xuất hiện màng có tính đàn hồi.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Toluen* - *ethyl acetat* (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol* (TT), lắc kỹ trong 30 phút. Lọc, cô dịch lọc tới còn 1 ml dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Đỗ trọng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết tương tự như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *dung dịch vanilin* 1 % trong *acid sulfuric* (TT), để khô, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 70 °C, 5 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 11,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 75 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch từ tháng 4 đến tháng 6, bóc lấy vỏ, cạo bỏ vỏ thô, xếp đồng cho đến khi mặt trong của vỏ có màu nâu tím đen thì phơi khô.

Bào chế

Đỗ trọng: Cạo vỏ thô còn sót lại, rửa sạch, thái miếng hoặc sợi còn tơ, phơi khô, dùng sống hoặc chế.

Điêm đỗ trọng (Chế muối): Đỗ trọng thái miếng còn tơ, tẩm nước muối trong 2 giờ (1 kg Đỗ trọng dùng 30 g muối trong 200 ml nước), sao vàng, dứt tơ là được; hoặc sao đến khi mặt ngoài màu đen sém khi bẻ gãy, tính đàn hồi tơ kém so với khi chưa sao; vị hơi mặn.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng.

Tính vị, quy kinh

Cam, ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Bổ can thận, mạnh gân cốt, an thai, hạ áp. Chủ trị: Đau nhức cơ khớp, tảo tiết, liệt dương, động thai ra máu, tăng huyết áp.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc tán.

Kiêng kỵ

Âm hư hỏa vượng không nên dùng.

ĐỘC HOẠT (RỄ)***Radix Angelicae pubescentis***

Rễ phơi hay sấy khô của cây độc hoạt (*Angelica pubescens* Maxim.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Rễ cái hình trụ, trên to, dưới nhỏ, đầu dưới phân 2 đến 3 nhánh hoặc hơn, dài 10 cm đến 30 cm. Đầu rễ phình ra, hình nón ngược với nhiều vân ngang. Đường kính 1,5 cm đến 3 cm, đỉnh trên còn sót lại ít gốc thân, mặt ngoài màu nâu xám hay nâu thẫm, có vân nhăn dọc, với các lỗ vỏ, hơi lõm ngang và những vết sẹo rễ con hơi nổi lên. Chất tương đối rắn chắc, khi ẩm thì mềm. Mặt bẻ gãy có vỏ màu xám trắng, với nhiều khoang dầu màu nâu rải rác, gỗ từ màu vàng xám đến vàng nâu, tầng phát sinh màu nâu. Mùi thơm ngát đặc biệt, vị đắng và hăng, nếm hơi tê lưỡi.

Vi phẫu

Lớp bần có nhiều hàng tế bào. Vỏ hẹp với ít khoang tinh dầu. Libe rộng chiếm nửa bán kính của rễ. Khoang tinh dầu tương đối nhiều, xếp thành vài vòng tiếp tuyến, lớn tới 153 μm , xung quanh bao bọc bởi 6 tế bào đến 10 tế bào tiết. Tầng phát sinh tạo thành vòng tròn liên tục. Tia gỗ rộng có 1 đến 2 hàng tế bào. Mạch rải rác, đường kính tới 84 μm , thường xếp theo hình xuyên tâm, riêng lẻ. Tế bào mô mềm chứa hạt tinh bột.

Định tính

A. Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 3 ml *ether* (TT), đun trên cách thủy hồi lưu 1 giờ, lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô. Thêm vào căn 30 ml *ether* dầu hòa (30 °C đến 60 °C) (TT), lắc và lọc. Hòa tan căn trong 3 ml *ethanol* (TT) rồi đem quan sát dưới ánh sáng tử ngoại (365 nm) sẽ có huỳnh quang xanh tím.

B. Lấy 1 ml dung dịch ở phản ứng (A), thêm 3 giọt *dung dịch hydroxylamin hydroclorid* 70 % trong *methanol* (TT) mới pha và 3 giọt *dung dịch kali hydroxyd* 10 % trong *methanol* (TT), đun nóng nhẹ trên cách thủy, để nguội rồi thêm 2 giọt *dung dịch sắt* (III) clorid 1 % trong *acid hydrocloric* (TT), lắc mạnh sẽ xuất hiện màu vàng cam.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel 60 F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - acetone (8 : 2 : 0,5)

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ether* (TT), ngâm qua đêm, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới khô, hòa tan căn trong 2 ml *cloroform* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Độc hoạt (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử, được dung dịch đối chiếu.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng để khô ở trong không khí rồi đem quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát huỳnh quang cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu (qua rây có kích thước mắt rây 0,250 mm, để dược liệu trong bình hút ẩm chứa *phosphor pentoxyd* (TT) trong 48 giờ, sau đó cân dược liệu), cho vào bình Soxhlet, thêm 70 ml *ether* (TT) và 1 số hạt thủy tinh. Đun hồi lưu trên cách thủy trong 4 giờ, để nguội, lọc, rửa bình và căn bằng *ether* (TT), gộp dịch lọc và dịch rửa vào bình định mức 100 ml, thêm *ether* (TT) đến vạch, lắc đều. Lấy chính xác 50 ml dịch chiết, cho vào 1 cốc có mở đã được sấy đến khối lượng không đổi, bốc hơi dịch chiết *ether* ở nhiệt độ thường rồi đặt trong bình hút ẩm có chứa *phosphor pentoxyd* (TT) trong 24 giờ, xác định lượng cao chiết dược liệu. Chất chiết được trong *ether* không được dưới 3,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, khi thân, lá cây khô, lụi hoặc vào mùa xuân trước khi cây nảy chồi, đào lấy rễ, bỏ thân, lá, rễ con, rửa sạch, sấy đến gần khô, xếp đông 2 đến 3 ngày, sau khi mềm, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Dược liệu khô, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái phiến mỏng, phơi khô hay sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, khổ, vị ôn. Vào các kinh thận, can, bàng quang.

Công năng

Khu phong, trừ thấp, thông tý, chỉ thống. Chủ trị: Phong hàn thấp tý, thắt lưng và đầu gối đau, thiếu âm phục phong, đầu thống.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc hoặc ngâm rượu.

ĐƠN LÁ ĐỎ (Lá)

Folium Excoecariae

Đơn mặt trời, Đơn tía

Dược liệu là lá đã phơi hay sấy khô của cây Đơn lá đỏ (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.), họ Thầu dầu (*Euphorbiaceae*).

Mô tả

Lá hình bầu dục hai đầu thuôn nhọn, dài 6 cm đến 12 cm, rộng 2 cm đến 4 cm. Cuống lá dài 0,5 cm đến 1 cm. Phiến lá nguyên, mép lá có răng cưa nhỏ, mặt trên lá màu lục sẫm, mặt dưới màu đỏ tía. Có 10 đến 12 cặp gân lông chim nổi rõ ở mặt dưới lá, lõm ở mặt trên lá.

Vĩ phẫu

Phân gân lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một lớp tế bào nhỏ xếp liên tục, kích thước tương đối đều nhau. Nằm sát biểu bì trên và biểu bì dưới là mô dày gồm những đám tế bào hình trứng, kích thước khác nhau, có thành dày bất màu đỏ. Tiếp theo là mô mềm, gồm những tế bào có kích thước lớn, không đều nhau, có thành mỏng, xếp lộn xộn. Giữa gân lá là bó libe gỗ, hình cung, cung libe ở ngoài ôm lấy cung gỗ ở trong.

Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một hàng tế bào hình chữ nhật nằm ngang, có thành ngoài hóa cutin. Dưới biểu bì trên là mô giậu gồm một hàng tế bào hình chữ nhật.

Bột

Bột lá có màu xanh nâu, mùi hắc nhẹ. Quan sát dưới kính hiển vi thấy: mảnh mô mềm, mạch mạng, mạch xoắn đứng riêng lẻ hay trong các mô, bó sợi, mảnh mô mềm, tinh thể calci oxalat hình cầu gai, mảnh biểu bì có nhiều tế bào lỗ khí kiểu song bào.

Định tính

A. Cân 1 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm 5 ml *ethanol* 50 % (TT), đun cách thủy trong 5 phút, lọc. Dịch lọc có màu đỏ tía.

B. Cân 5 g dược liệu đã được làm nhỏ cho vào bình Soxhlet rồi chiết với *ether dầu hỏa* (30 °C đến 60 °C) (TT) cho đến khi hết màu. Bã dược liệu sau khi chiết bằng ether dầu hỏa để bay hơi hết dung môi, cho vào bình cầu dung tích 100 ml, thêm 50 ml *ethanol* 90 % (TT), lắp sinh hàn hồi lưu, đun cách thủy sôi trong 30 phút, lọc. Dịch lọc cô cách thủy đến còn khoảng 3 ml. Lấy 1 ml dịch chiết ethanol vào ống nghiệm, thêm một ít bột *magnesi* (TT) và vài giọt *acid hydrocloric* (TT), đun nóng nhẹ trên nồi cách thủy, thấy xuất hiện màu hồng đỏ.

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1g, 85°C, 4h).

Tạp chất

Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 3,15 mm: Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến

Thu hái lá quanh năm, nhưng tốt nhất vào mùa hè. Lá hái về được phơi hoặc sấy tới khô. Trước khi dùng sao vàng. Cũng có thể dùng tươi.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Vị đắng nhạt, tính mát.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, khu phong trừ thấp, lợi tiểu, giảm đau. Chủ trị: Mụn nhọt, mẩn ngứa, ban chẩn mảy đay, đi ỉa lỏng lâu ngày.

Liều lượng, cách dùng

Ngày dùng 6 g đến 12 g lá khô (hoặc 20 g đến 40 g lá tươi), dưới dạng thuốc sắc hoặc hãm.

Kiêng kỵ

Người hay chảy máu không nên dùng.

ĐƯƠNG QUY (RỄ)

Radix Angelicae sinensis

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Đương quy [*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels.], họ Hoa tán (*Apiaceae*).

Mô tả

Rễ dài 10 cm đến 20 cm, gồm nhiều nhánh, thường phân biệt thành 3 phần: Phần đầu gọi là quy đầu, phần giữa gọi là quy thân, phần dưới gọi là quy vĩ. Đường kính quy đầu 1,0 cm đến 3,5 cm, đường kính quy thân và quy vĩ từ 0,3 cm đến 1,0 cm. Mặt ngoài màu nâu nhạt, có nhiều nếp nhăn dọc. Mặt cắt ngang màu vàng ngà có vân tròn và nhiều điểm tinh dầu. Mùi thơm đặc biệt, vị ngọt, cay, hơi đắng.

Vĩ phẫu

Lớp vỏ mỏng màu nâu nhạt. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng chứa tinh bột. Vùng libe có nhiều ống tiết tinh dầu. Tầng sinh libe-gỗ là một vòng ngoằn ngoèo rõ rệt. Mô mềm ruột có nhiều sợi.

Bột

Bột màu nâu vàng, mùi thơm đặc biệt. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột đứng riêng lẻ. Các ống tiết tinh dầu, thường bị vỡ. Mảnh mô mềm có nhiều hạt tinh bột. Mảnh mạch mạng, mạch xoắn, mạch điểm.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel 60 F₂₅₄*.

Hệ dung môi: *Cyclohexan - ethyl acetat* (8 : 2).

Dung dịch mẫu thử: Lấy 4 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 95 % (TT)* ngâm trong 1 giờ, thỉnh thoảng lắc. Lọc. Bốc hơi dịch lọc đến còn khoảng 10 ml, được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 4 g bột Đương quy (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, để bay hơi hết dung môi ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 2 vết phát quang xanh sáng to rõ và 6 vết màu xanh lơ (phụ) có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13), dùng 10 g dược liệu cắt nhỏ.

Tro không tan trong acid

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 40,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu. Đào lấy rễ, rửa sạch, loại bỏ tạp chất, phơi hoặc sấy ở nhiệt độ thấp đến khô.

Bào chế

Đương quy đã loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát mỏng, phơi khô hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Từ Đương quy: Lấy Đương quy đã thái thành lát, phun rượu cho đều, ủ qua, cho vào chảo đun nhỏ lửa, sao nhẹ đến khô, lấy ra để nguội. Cứ 100 kg Đương quy dùng 10 kg rượu. Dược liệu này là片片 mỏng dạng tròn hoặc không đều, mặt cắt có vân nâu nhạt. Chất dai, màu vàng thẫm, vị hơi đắng, mùi thơm nồng, có mùi rượu.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh ẩm, mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, tân, ôn. Vào các kinh can, tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị

Bổ huyết, hoạt huyết, điều kinh, giảm đau, nhuận tràng. Chủ trị: Huyết hư, chóng mặt. Kinh nguyệt

không đều, bế kinh, đau bụng kinh, táo bón do huyết hư. Phong thấp tê đau, sưng đau do sang chấn.

Đương quy chích rượu: Dùng điều trị bế kinh, đau bụng kinh, phong thấp tê đau, sưng đau do sang chấn.

Toàn Quy: Hòa huyết (vừa bổ huyết vừa hoạt huyết).

Quy vĩ: Hoạt huyết hóa ứ.

Quy thân: Dương huyết bổ huyết.

Quy đầu: Chỉ huyết.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc ngâm rượu.

Kiêng kỵ

Tỳ vị có thấp nhiệt, đại tiện lỏng không nên dùng.

ĐƯƠNG QUY DI THỰC (RỄ)***Radix Angelicae acutilobae***

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Đương quy di thực từ Nhật Bản [*Angelica acutiloba* (Sieb. et Zucc.) Kitagawa], họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Rễ chính ngắn và mập, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 2 cm trở lên, có nhiều rễ nhánh dài 15 cm đến 20 cm, đường kính 0,2 cm trở lên. Mặt ngoài màu nâu tối, có nhiều nếp nhăn dọc, nhiều sẹo lồi nằm ngang là vết tích của rễ con. Mặt cắt ngang màu trắng ngà có vân tròn và nhiều điểm tinh dầu. Mùi thơm hơi hắc, vị ngọt nhẹ, sau hơi cay nóng.

Vi phẫu

Mặt cắt ngang hình tròn, từ ngoài vào trong có: Lớp bần gồm nhiều hàng tế bào hình chữ nhật thành dày xếp thành vòng đồng tâm và dây xuyên tâm. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng, lớp phía ngoài thường bị ép bẹp, méo mó, rải rác có các khuyết tế bào hình dạng khác nhau. Thỉnh thoảng có các ống tiết tinh dầu nằm rải rác trong mô mềm vỏ và libe. Libe-gỗ bị phân cách bởi các tia ruột tạo thành các bó dài riêng biệt. Tầng sinh libe-gỗ tạo thành vòng liên tục. Tia ruột gồm 2 đến 3 hàng tế bào xếp theo hướng xuyên tâm.

Bột

Bột có màu vàng nâu, mùi thơm, vị cay. Soi dưới kính hiển vi thấy: Có nhiều hạt tinh bột hình tròn hay hình trứng nhỏ đứng riêng lẻ hay từng đám, đường kính từ 5 µm đến 20 µm. Mạch mạng, mạch xoắn, mạch điểm. Mạch mô mềm có nhiều hạt tinh bột, rải rác có các giọt dầu màu vàng nhạt.

Định tính

A. Bột dược liệu phát quang dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel 60F₂₅₄.

Hệ dung môi: Cyclohexan - ethyl acetat - acetone (7 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu thêm 20 ml acetone (TT) lắc thật kỹ (lắc trên máy lắc) trong 1 giờ. Lọc. Bóc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cần trong 1 ml chloroform (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Dương qui di thực (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, để bay hơi hết dung môi ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết phát quang xanh lơ sáng có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Sau đó phun dung dịch kali hydroxyd 1 M trong ethanol (TT), các vết này phát quang mạnh hơn.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro không tan trong acid

Không quá 4,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Thân, lá, hoa lẫn trong dược liệu: Không quá 2,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 35,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng ethanol 50 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Cây trồng được 10 đến 12 tháng thì thu hoạch. Đào lấy rễ củ, rửa sạch, phơi hay sấy ở 50 °C đến 60 °C đến khô.

Bảo quản

Đề nơi khô mát, tránh ẩm, mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Cam, tân, ôn. Vào các kinh can, tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị

Bổ huyết, hành huyết, hoạt huyết, điều kinh, nhuận tràng, thông đại tiện. Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, đau bụng khi thấy kinh, thắt lưng đau, băng lậu, đại tiện khô táo, đi lỵ đau bụng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 15 g, dạng thuốc sắc.

GAJ (RỄ)

Radix Boehmeriae niveae

Trữ ma căn

Rễ đã phơi hoặc sấy khô của cây Gai làm bánh [Boehmeria nivea (L.) Gaud.], họ Gai (Urticaceae).

Mô tả

Rễ hình trụ, hơi cong queo, dài 8 cm đến 25 cm, đường kính 0,8 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu nâu xám hoặc nâu sẫm, có những vết nhăn dài theo chiều dọc và ngang, có lỗ bì và có vết tích của rễ con. Chất cứng, vết bẻ màu vàng có xơ, phần vỏ màu nâu xám, phần gỗ màu nâu nhạt, một số ở giữa có vòng đồng tâm, phần tủy (ruột) màu nâu, trong rỗng, tia ruột khá rõ. Mùi nhẹ, vị nhạt, nhai hơi dính răng.

Vi phẫu

Lớp vỏ gồm 3 đến 4 hàng tế bào hình chữ nhật, màu nâu. Mô mềm vỏ gồm các tế bào hình đa giác, thành mỏng, rải rác có các tế bào chứa chất nhầy và tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đôi khi có đám sợi. Bó libe-gỗ bị ngăn cách nhau bởi các tia ruột kéo dài ra tận mô mềm vỏ, trong libe cũng có đám sợi. Mạch gỗ tròn, to, chạy dài đến ruột. Mô mềm ruột hẹp.

Bột

Màu vàng nâu. Soi kính hiển vi thấy: Sợi dài, rời hoặc dính lại thành bó. Mảnh mô mềm có tế bào hình nhiều cạnh, thành mỏng, chứa đầy tinh bột. Hạt tinh bột tròn, nhỏ. Mảnh mạch gỗ rỗng. Mảnh bản màu vàng sẫm, dày. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng ethanol 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ hay mùa thu. Đào lấy rễ, rửa sạch đất, cắt bỏ rễ con, để nguyên hay thái편, dùng tươi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Đề nơi khô.

Tính vị, qui kinh

Cam, hàn. Vào kinh can, tâm.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, chỉ huyết, an thai, lợi tiểu. Chủ trị: Huyết lâm, thổ huyết, hạ huyết, xích bạch đới, mụn nhọt, động thai ra máu, sưng đau do côn trùng cắn, sang chấn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 20 g, dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài: Lấy rễ tươi giã lấy nước để bôi, đắp hoặc sắc lấy nước rửa.

Kiêng kỵ

Vị hư, ỉa chảy không nên dùng.

GẮC (Áo hạt)***Arillus Momordicae cochinchinensis***

Áo hạt lấy từ hạt quả chín đem phơi hoặc sấy khô của cây Gắc [*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.], họ Bí (Cucurbitaceae).

Mô tả

Dược liệu là những màng dày khoảng 1 mm, dài 2 cm đến 3 cm, rộng 2 cm đến 2,5 cm, màu đỏ cam, bề mặt nhẵn nhéo. Thê chất khô giòn, dễ gãy vụn, mùi hăng nhẹ, vị nhạt.

Bột

Bột màu đỏ cam, soi kính hiển vi thấy: Mảnh mô mềm gồm các tế bào hình đa giác, kích thước tương đối đều, thành hơi dày, xếp sát nhau, đều đặn. Nhiều hạt dầu tròn nhỏ màu cam. Rải rác có các khối chất màu nâu đen.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G

Dung môi khai triển: Cyclohexan - Ether ethylic (4 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột thô dược liệu, thêm 10 ml ether dầu hòa (40 °C đến 60 °C) (TT), ngâm trong 1 giờ, lọc. Cô đến cạn. Hòa cần trong 1 ml ether dầu hòa (40 °C đến 60 °C) (TT) làm dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch β -caroten nồng độ 0,1 mg/ml trong ether dầu hòa (40 °C đến 60 °C) (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tự nhiên. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết chính cùng màu, cùng giá trị R_f với vết của β -caroten đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng khoảng 10 g dược liệu.

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Cân chính xác 10 g bột dược liệu vào một bình nón nút mài dung tích 250 ml. Thêm 100 ml ether dầu hòa (40 °C đến 60 °C), đun hồi lưu trên cách thủy ẩm trong 30 phút. Để lắng, gạn lấy dịch chiết. Chiết như

trên 02 lần nữa, mỗi lần với 50 ml ether dầu hòa (40 °C đến 60 °C). Lọc dịch chiết và tập trung các dịch lọc vào một chén đã cân bì, cô dịch lọc trên cách thủy đến khi hết ether dầu hòa. Để nguội trong bình hút ẩm. Cân và tính kết quả.

Hàm lượng cần dầu không được dưới 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Quả gấc chín, bỏ lấy hạt, phơi hoặc sấy hay đồ chín cho bột dính, bóc lấy áo hạt, ép lấy dầu hoặc phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ 40 °C đến 60 °C. Màng áo hạt gấc dùng chế dầu gấc.

Bảo quản

Để nơi khô, mát.

Tính vị qui kinh

Cam, bình. Vào kinh can, tỳ, vị.

Công năng chủ trị

Bổ tỳ, thanh can sáng mắt. Dùng cho trẻ con chậm lớn, phụ nữ mang thai, cho con bú, bệnh khô mắt, quáng gà.

Cách dùng, liều lượng

Dạng dầu. Người lớn 10 đến 20 giọt /ngày (2 lần/ngày). Trẻ em: 5 đến 10 giọt /ngày.

GẮC (Hạt)***Semen Momordicae cochinchinensis*****Mộc miết tử**

Hạt đã bóc áo hạt, phơi hay sấy khô, lấy từ quả chín của cây Gắc [*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.], họ Bí (Cucurbitaceae).

Mô tả

Hạt gần tròn, dẹt, giữa hơi phồng lên, đường kính 2 cm đến 4 cm, dày 0,5 cm. Vỏ hạt cứng màu nâu đen, mép có răng tù và rộng. Phía trong vỏ cứng có màng mỏng như nhung, màu lục xám, trên mặt có những vết dài nhỏ màu nâu. Hai lá mầm màu trắng ngà ép vào nhau, có chất dầu. Mùi đặc biệt, vị đắng.

Bột

Màu vàng xám, tế bào mô cứng hình tròn hay bầu dục, thành dày hóa gỗ, mép lượn sóng, đường kính 50 μ m đến 120 μ m, có khoang rõ rệt, hẹp. Tế bào mô mềm của lá mầm có hình nhiều cạnh, chứa dầu béo và hạt aleuron. Khối dầu hình tròn, đường kính 30 μ m đến 70 μ m, có vân lưới rõ trên bề mặt.

Định tính

A. Lấy 2 g bột dược liệu thô, thêm 20 ml ether (TT), ngâm ẩm khoảng 30 phút, lọc. Lấy 2 ml dịch lọc, bốc hơi trên cách thủy đến khô. Thêm một ít bột natri

sulfat khan (TT) vào cặn, đun nóng, sẽ có bọt và hơi cay màu trắng bốc lên.

B. Lấy 1 g bột được liệu thô, thêm 10 ml *ethanol* 70 % (TT), đun trên cách thủy 30 phút [nếu cặn thì thêm *ethanol* 70 % (TT) vừa đủ thể tích], lọc. Lấy 2 ml dịch lọc cô trên cách thủy tới cặn sền sệt. Thêm vào cặn 20 ml *nước* nóng, khuấy đều, để nguội, lọc. Lấy 10 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, lắc mạnh theo chiều dọc của ống nghiệm 15 phút. Để yên 15 phút thấy có cột bọt bền 5 phút.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.13).

Chế biến

Thu hái quả chín vào mùa đông, bỏ ra và phơi cho se, loại bỏ vỏ thịt quả, lấy hạt phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Mộc miết tử sống: Tách bỏ phần vỏ hạch cứng, lấy nhân, để nguyên hoặc mài với dấm để bôi.

Bột mộc miết tử sương: Sao nhân hạch mộc miết tử sạch, nghiền nát, bọc vào giấy bản và ép để loại hết chất dầu được bột trắng như sương.

Bảo quản

Để nơi khô ráo.

Tính vị, qui kinh

Khô, cam, ôn, có độc. Quy vào kinh can, tỳ vị.

Công năng, chủ trị

Tán kết tiêu sưng, giải độc. Chủ trị: Sưng viêm, nhũ ung, tắc tia sữa, tràng nhạc, trĩ, dò hậu môn, chấn thương, ú huyết.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 0,9 g đến 1,2 g dạng uống. Dùng ngoài với một lượng bột thích hợp trộn với dầu hay dấm đắp tại chỗ, hoặc mài để bôi, hoặc ngâm rượu để bóp chỗ bị sưng dập.

Kiêng kỵ

Thận trọng đối với phụ nữ có thai.

GỪNG (Thân rễ)

Rhizoma Zingiberis

Can khương

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Gừng (*Zingiber officinale* Rose.), họ Gừng (*Zingiberaceae*).

Mô tả

Thân rễ (quen gọi là củ) không có hình dạng nhất định, thường phân nhánh, dài 3 cm đến 7 cm, dày 0,5 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu trắng tro hay vàng nhạt, có vết nhăn dọc. Đỉnh các nhánh có đỉnh sinh trưởng của thân rễ. Vết bề màu trắng tro hoặc ngà vàng, có bột, vân tròn rõ. Mặt cắt ngang có sợi thưa. Mùi thơm, vị cay nóng.

Vi phẫu

Biểu bì gồm một lớp tế bào nhỏ hình chữ nhật, xếp tương đối đều đặn. Dưới lớp biểu bì là lớp suberoid gồm 5 đến 6 hàng tế bào tròn hoặc gần tròn nhuộm màu xanh, xếp xen kẽ nhau. Phía dưới lớp suberoid là lớp bản gồm những tế bào hình chữ nhật, xếp xuyên tâm và đồng tâm. Mô mềm vỏ đạo. Phía trong lớp nội bì tạo thành vòng không liên tục, sát lớp nội bì là lớp trụ bì. Các bó libe gỗ rải rác trong phần mô mềm vỏ và mô mềm ruột, tập trung nhiều nhất ở sát lớp nội bì. Mỗi bó hình tròn hay hình trứng có 1 đến 6 mạch gỗ ở giữa, libe chồng lên gỗ, rải rác có các mạch gỗ bị cắt dọc. Những tế bào tiết tinh dầu rải rác khắp mô mềm ruột và mô mềm vỏ.

Bột

Mảnh mô mềm gồm những tế bào hình nhiều cạnh, rải rác có chứa tế bào tiết tinh dầu màu vàng nhạt. Tinh bột hình trứng, có vân rõ. Mạch bản gồm các tế bào hình chữ nhật, vách dày, màu vàng nâu. Sợi có thành mỏng. Mạch mạch vạch, mạch vòng, mạch điểm.

Định tính

A. Lấy khoảng 5 g bột được liệu, thêm 20 ml *ethanol* 70 % (TT), đun sôi, lắc đều, lọc.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 5 giọt *dung dịch natri nitroprusiat* 1 % (TT), thêm 3 giọt *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT), xuất hiện màu đỏ. Thêm 2 giọt *acid acetic* băng (TT), có tua chuyển sang màu vàng.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 3 giọt *dung dịch parani-troanilin* (TT), thêm 0,5 ml *dung dịch natri hydro-carbonat* 5 % (TT), 4 ml *nước*, đun sôi, để nguội, dung dịch có màu nâu đỏ.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *n-Hexan* - *aceton* - *acid acetic* băng (7,5 : 2,5 : 4 giọt).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột được liệu, thêm 5 ml *aceton* (TT), lắc trong 3 phút, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Gừng (mẫu chuẩn) chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *thuốc thử vanilin* - *sulfuric* (TT). Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi xuất hiện vết. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ít nhất 10 vết cùng màu sắc và giá trị *R_f* với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất: Không quá 1,0 %.

Tỉ lệ non xốp: Không quá 1,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu

Chất chiết được trong nước: Không ít hơn 14,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chất chiết được trong ethanol 90 %: Không ít hơn 6,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 90 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng

Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).

Cho 30 g dược liệu đã được cắt nhỏ vào bình cầu dung tích 500 ml của bộ dụng cụ định lượng tinh dầu trong dược liệu. Thêm 300 ml *nước*, tiến hành cất trong 3 giờ.

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,5 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Đào lấy củ gừng già, rửa sạch, phơi hoặc sấy đến khô (can khương). Khi dùng có thể sao vàng hoặc sao cháy (thán khương).

Bảo quản

Đề nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh

Tân, nhiệt. Vào các kinh tâm, phế, tỳ, vị, thận, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Ôn trung tán hàn, hồi dương, thông mạch, tảo thấp tiêu đàm. Chủ trị: Đau bụng lạnh, đầy trướng không tiêu, nôn mửa ỉa chảy, tứ chi lạnh, đàm ẩm, ho suyễn. Thán khương tăng cường chỉ huyết.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 8 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Âm hư nội nhiệt, biểu hư ra mồ hôi nhiều hoặc mất máu không nên dùng.

HÀ THỦ Ô ĐỎ (RỄ)***Radix Fallopiae multiflorae*****Dạ giao đằng**

Rễ củ phơi hay sấy khô của cây Hà thủ ô đỏ [*Fallopia multiflora* (Thunb.) Haraldson Syn. *Polygonum multiflorum* (Thunb.)], họ Rau răm (Polygonaceae).

Mô tả

Rễ củ tròn, hoặc hình thoi, không đều, củ nhỏ để nguyên, củ to bỏ đôi theo chiều dọc, hay chặt thành

từng miếng to. Mặt ngoài có những chỗ lồi lõm do các nếp nhăn ăn sâu tạo thành. Mặt cắt ngang có lớp bản mỏng màu nâu sẫm, mô mềm vỏ màu đỏ hồng, có nhiều bột, ở giữa có ít lõi gỗ. Vị chất.

Vị phẫu

Lớp bản gồm 3 đến 4 hàng tế bào thành dày. Mô mềm vỏ phát triển nhiều, rải rác có nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai và hình thoi. Từng đám libe cấp 2 rời nhau xếp thành một vòng tròn ứng với các đám gỗ cấp 2 ở bên trong. Tầng sinh libe-gỗ. Gỗ cấp 2 chạy vào đến tâm. Tia ruột chạy từ tâm cắt libe-gỗ cấp 2 thành từng đám. Ngoài ra có các bó libe gỗ thứ cấp được hình thành sau gỗ cấp 2 nằm riêng lẻ hoặc chụm với nhau rải rác khắp mô mềm vỏ.

Bột

Mùi nhẹ, màu nâu hồng, vị hơi chất. Soi dưới kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột đơn hoặc kép đôi, kép ba, nằm riêng lẻ hoặc kết thành khối, đường kính 5 µm đến 25 µm, rón hình sao hay phân nhánh.

Rải rác có các mảnh mạch điểm. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đường kính 20 µm đến 50 µm. Mảnh bản gồm các tế bào hình đa giác thành dày có màu đỏ nâu. Mảnh mô mềm có tế bào thành mỏng chứa tinh bột. Sợi nhỏ dài có vách dày với nhiều ống trao đổi.

Định tính

A. Lấy 2 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, ngâm với 10 ml *nước* trong 30 phút, gạn lấy 5 ml, thêm 3 giọt đến 4 giọt *dung dịch natri hydroxyd (TT)* sẽ có màu đỏ sẫm.

B. Lấy 0,1 g bột, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* đun trong cách thủy trong 5 phút, để nguội, lọc, dịch lọc được acid hóa bằng *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* đến môi trường acid (thử bằng giấy quỳ), sau đó lắc với 20 ml *ether ethylic (TT)*, lớp *ether ethylic* có màu vàng cam, gạn lấy 5 ml *ether*, thêm 5 ml *dung dịch amoniac đậm đặc (TT)*, lớp amoniac sẽ có màu đỏ.

C. Lấy 0,2 g bột dược liệu đun cách thủy với 10 ml *ethanol 96 % (TT)* trong 5 phút, để nguội, lọc, lấy 5 ml dịch lọc để bay hơi đến khô, thêm 2 ml *dung dịch antimony clorid (TT)* sẽ có màu đỏ hay tím đỏ.

D. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại lát cắt có màu vàng xám.

E. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel G

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - nước (100 : 17 : 13)

Dung dịch thử: Lấy 0,25 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 30 phút, để nguội, lọc, để bay hơi đến gần khô. Cắn thêm vào 10 ml *nước* và 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* đun trong cách thủy 30 phút,

để nguội sau đó lắc với 20 ml *ether ethylic* (TT) 2 lần, dịch ether được bay hơi còn khoảng 1 ml dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan *emodin* trong *ethanol* 96 % (TT) để được dung dịch có nồng độ 0,1 %. Nếu không có chất đối chiếu thì dùng 0,25 g bột Hà thủ ô đỏ (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng trong không khí ở nhiệt độ phòng, quan sát các vết dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm và hiện màu bằng hơi amoniac. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc với vết đạt được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu nếu dùng được liệu chuẩn để chuẩn bị dung dịch đối chiếu; hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có một vết phát quang có cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của *emodin* trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Tỉ lệ xơ gỗ: Không quá 1,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 20,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt (Phụ lục 12.10).

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh, dùng *ethanol* 30 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, khi lá khô úa, đào lấy củ cắt bỏ hai đầu, rửa sạch, củ to cắt thành miếng, phơi hay sấy khô. Nếu đồ chín rồi phơi thì tốt hơn. Trước khi dùng thường nấu, đồ với đậu đen.

Bào chế

Chế Hà thủ ô: Rửa sạch củ, ngâm nước vo gạo 1 ngày 1 đêm, sau đó rửa lại. Đổ nước đậu đen cho ngập (cứ 1 kg Hà thủ ô cần 100 g Đậu đen, 2 lít nước, nấu đến khi đậu đen nhừ nát), nấu đến khi gần cạn, cần đảo luôn cho chín đều. Khi củ đã mềm, lấy ra, bỏ lõi (nếu có). Thái hoặc cạo mỏng rồi phơi khô. Nếu còn nước đậu đen thì tẩm phơi cho hết. Nếu đồ thì đồ 9 lần rồi phơi 9 lần (cửu chưng cửu sái) thì càng tốt. Khi đun nên đặt vỉ ở đáy nồi cho khỏi cháy dược liệu.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, thoáng.

Tính vị, quy kinh

Khô, cam, sáp, ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Dưỡng huyết, bổ can thận, nhuận tràng thông tiện, làm xanh tóc. Chủ trị: Huyết hư thiếu máu, da xanh, gầy, đau lưng, di tinh, tóc bạc sớm, táo bón.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g Hà thủ ô đã chế, dạng thuốc sắc hoặc rượu thuốc.

HÀ THỦ Ô TRẮNG (RỄ)

Radix Streptocauli

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Hà thủ ô trắng [*Streptocaulon juvenas* (Lour.) Merr.], họ Thiên lý (Asclepiadaceae).

Mô tả

Rễ nạc hình trụ, đường kính 1 cm đến 3 cm. Mặt ngoài màu nâu nhạt đến nâu xám, có nếp nhăn và rãnh dọc, có nhiều lỗ vỏ nằm ngang và những vết tích của rễ con còn sót lại. Mặt cắt ngang có màu trắng ngà đến màu vàng nâu nhạt, nhìn thấy rõ tầng phát sinh libe-gỗ. Vết hơi đắng, có nhiều bột.

Vi phẫu

Mặt cắt ngang rễ hình tròn. Soi dưới kính hiển vi từ ngoài vào trong có: Lớp vỏ cấu tạo bởi nhiều hàng tế bào hình chữ nhật, xếp thành vòng đồng tâm và dày xuyên tâm. Mô mềm vỏ gồm những tế bào có thành mỏng, rải rác có các tinh thể calci oxalat hình khối. Libe cấp 2 bị phân chia bởi tia ruột thành các bó dài. Trong libe có sợi, ống nhựa mủ. Tầng sinh libe-gỗ quan sát rõ. Gỗ cấp 2 cấu tạo bởi những mạch gỗ lớn, có thành dày, xếp nối tiếp thành từng dãy rời nhau trong mô mềm gỗ.

Bột

Màu nâu nhạt, vị đắng sau chát. Soi kính hiển vi thấy: Các mảnh mô mềm, nhiều tinh thể calci oxalat hình khối, hạt tinh bột đơn, kép đôi, kép ba, rải rác ở ngoài hay ở trong tế bào mô mềm. Các hạt tinh bột có rốn hạt hình chữ V hay chấm, những hạt to có thể quan sát thấy vân hạt. Mảnh bản màu vàng nâu. Nhiều mảnh mạch mạng, mạch chấm, sợi libe.

Định tính

A. Lấy 10 g bột dược liệu cho vào bình nón dung tích 250 ml, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc* (TT) vừa đủ rồi thêm vào bình 20 ml đến 25 ml *cloroform* (TT), đun trên cách thủy sôi trong 2 phút đến 3 phút, lọc vào bình gạn qua giấy lọc đã được thấm ẩm bằng *cloroform* (TT). Lắc 2 lần, mỗi lần với 5 ml *dung dịch acid hydrocloric* 0,1 N (TT). Để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, gạn lấy lớp acid. Gộp dịch chiết acid rồi chia vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat* (TT) sẽ xuất hiện tủa nâu.

Ông 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)* sẽ xuất hiện tua trắng.

Ông 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)* sẽ xuất hiện tua vàng cam.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Toluene - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ trong 30 phút. Lọc, cô dịch lọc tới còn 1 ml dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Hà thủ ô trắng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)* Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 3 phút đến 5 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 %. (Phụ lục 9.6).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).

Dược liệu còn sót gốc thân: Không quá 1,0 %.

Tỷ lệ rễ nhỏ (đường kính dưới 1 cm): Không quá 10,0 %.

Chế biến

Thu hái quanh năm, đào lấy rễ củ về rửa sạch, thái lát, phơi hoặc sấy khô. Có thể ngâm nước vo gạo 12 giờ rồi phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, sáp, lương. Vào hai kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Bổ huyết, bổ can thận. Chủ trị: Huyết hư thiếu máu, da xanh gầy, tóc bạc sớm, yếu sinh lý, kinh nguyệt không đều, đau nhức gân xương.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 20 g, dạng thuốc sắc.

HẠ KHÔ THẢO (Cụm quả)

Spica Prunellae

Cụm quả đã phơi hay sấy khô của cây Hạ khô thảo (*Prunella vulgaris* L.), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Dược liệu hình chùy do bị ép nên hơi dẹt, dài 1,5 cm đến 8 cm, đường kính 0,8 cm đến 1,5 cm; màu từ nâu nhạt đến nâu đỏ. Toàn cụm quả có hơn 10 vòng đài còn lại và lá bắc, mỗi vòng lại có hai lá bắc mọc đối trên cuống hoa hay quả như hình quạt, đỉnh nhọn, có

gân gọn rõ, mặt ngoài phủ lông trắng. Mỗi lá bắc có 3 hoa nhỏ, trắng hoa thường bị rụng, đài có 2 môi, 4 quả hạch nhỏ hình trứng, màu nâu với vết lõi trắng ở đầu nhọn. Thở nhẹ, chất giòn, mùi thơm nhẹ, vị nhạt.

Bột

Bột màu nâu đen, mùi nhẹ, vị nhạt. Soi kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào một dãy, từ 5 đến 7 tế bào, đôi khi rất dài, bề mặt lấm tấm. Mảnh biểu bì dưới của lá có lỗ khí. Tế bào biểu bì đài hoa có vách ngoằn ngoèo. Mảnh mô mềm của cành gồm tế bào hình chữ nhật, xếp xen kẽ nhau. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai, gai có đầu tù. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn, mạch mạng. Đầu nhụy có tế bào dài và tỏa ra như nan quạt.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml *ethanol (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy 1 giờ, lọc. Lấy dịch lọc để thử các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch lọc cho vào một bát sứ nhỏ, bốc hơi trên cách thủy đến khô. Hòa tan cần bằng 1 giọt *acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu đỏ tím chuyển dần sang màu lục tối.

Nhỏ một vài giọt dịch lọc lên một tờ giấy lọc rồi phun hỗn hợp *dung dịch sắt (III) clorid 0,9 % (TT)* và *dung dịch kali fericyanid 0,6 % (TT)* theo tỷ lệ (1 : 1), sẽ xuất hiện màu xanh lơ.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - cloroform - ethyl acetat - acid acetic băng (20 : 5 : 8 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 giờ, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô, hòa cần 2 lần, mỗi lần với 15 ml *ether dầu hòa (30 °C đến 60 °C) (TT)* trong khoảng 2 phút, gạn bỏ dung dịch ether dầu hòa. Hòa tan cần trong 1 ml *ethanol (TT)* làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Hạ khô thảo (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra và để khô trong không khí. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tiếp tục phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 100 °C tới khi hiện rõ các vết, quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Thân cây: Không quá 5 %.

Tạp chất khác: Không quá 1 %.

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 7,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Vào mùa hạ, hái khi cụm quả có màu đỏ nâu, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Đề nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Tân, khô, hàn. Vào các kinh can, đờm.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giáng hỏa, minh mục, tán kết, tiêu sưng. Chủ trị: Tăng huyết áp, mắt đỏ sưng đau, đau con ngươi, chảy nước mắt do viêm tuyến lệ, nhức đầu, chóng mặt, buồn nôn; tràng nhạc, viêm tuyến vú, nhọt vú sưng đau.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g. Dạng thuốc sắc.

HẬU PHÁC (Vỏ)***Cortex Magnoliae officinalis***

Vỏ thân, vỏ rễ, vỏ cành phơi hay sấy khô của cây Hậu phác (*Magnolia officinalis* Rehd. et Wils.) hoặc cây Ao diệp hậu phác (*Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba* Rehd. et Wils.), họ Ngọc lan (Magnoliaceae).

Mô tả

Vỏ thân: Vỏ khô cuộn thành ống đơn hoặc ống kép, dài từ 30 cm đến 35 cm, dày 0,2 cm đến 0,7 cm, thường gọi là “đồng phát” (ống hậu phác). Đầu vỏ khô gần phần rễ loe ra như loa kèn, dài từ 13 cm đến 25 cm, dày 0,3 cm đến 0,8 cm, thường gọi là “hoa đồng phát”. Mặt ngoài màu nâu xám, thô, đôi khi dạng vảy dễ bóc ra, có lỗ vỏ hình bầu dục và có vân nhăn dọc rõ. Cạo bỏ vỏ thô hiện ra màu nâu vàng; mặt trong màu nâu tía hoặc nâu tía thâm, tương đối trơn, có sọc dọc nhỏ, cạo ra có vết dầu rõ. Chất cứng khó bẻ gãy. Mặt gãy sần sùi, lấm tấm hạt, tầng ngoài màu nâu xám, tầng trong màu nâu tía hoặc nâu, có chất dầu, đôi khi có đốm sáng nhỏ. Mùi thơm, vị cay hơi đắng.

Vỏ rễ (cần phác): Dạng ống đơn hoặc phiến lát không đều, có khi cong queo giống như ruột gà gọi là kê trường phác. Chất cứng, dễ bẻ gãy, mặt gãy có xơ.

Vỏ cành (chi phác): Dạng ống đơn, dài 10 cm đến 20 cm, dày 0,1 cm đến 0,2 cm. Chất giòn, dễ bẻ gãy, mặt gãy có xơ.

Vì phẩu

Lớp bản có trên 10 hàng tế bào, có khi thấy tầng vỏ bong ra. Phía ngoài vỏ có vòng tế bào mô cứng và phía trong rải rác nhiều tế bào chứa dầu và nhóm tế bào mô cứng. Tia libe có 1 đến 3 hàng tế bào rộng, phần nhiều sợi xếp thành bó tập trung ở vùng trụ bì; rải rác có các tế bào chứa dầu.

Bột

Màu nâu, có nhiều sợi, đường kính 15 µm đến 32 µm, vách rất dày, đôi khi có hình lượn sóng hoặc hình răng cưa ở một cạnh, hóa gỗ, ống lỗ không rõ. Tế bào mô cứng hình vuông, hình bầu dục, hình trứng, hoặc dạng phân nhánh không đều, đường kính từ 11 µm đến 65 µm, đôi khi có vân sọc rõ. Tế bào dầu hình bầu dục hoặc hơi tròn, đường kính 50 µm đến 85 µm, chứa chất dầu màu nâu vàng. Mảnh bản gồm những tế bào hình chữ nhật có vách dày, màu vàng nâu.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - acetone (9 : 1 : 0,5).

Dung dịch thử: Lắc 0,5 g bột dược liệu với 5 ml methanol (TT) trong 30 phút, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan magnolol chuẩn và honokiol chuẩn trong methanol (TT) để được dung dịch có nồng độ mỗi chất là 0,1 %. Nếu không có các chất đối chiếu, dùng 0,5 g bột vỏ Hậu phác (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT). Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 10 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).

Tỉ lệ vỏ chết: Không quá 2,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 14,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch từ tháng 4 đến tháng 6, bóc lấy vỏ rễ, vỏ thân, vỏ cành. Vỏ rễ và vỏ cành phơi âm can. Vỏ thân

chần qua nước sôi, vớt ra, chất đông để nơi ẩm cho đến khi bề mặt lõi có màu nâu tía hay nâu thẫm, đồ mềm, cuộn thành ống phơi khô.

Bào chế

Hậu phác phiến: Cạo sạch vỏ, rửa sạch, ủ mềm, thái lát, phơi khô.

Khuong Hậu phác (chế gừng): Gừng tươi nghiền nát, ép, vắt lấy nước cốt gừng. Thêm một lượng nhỏ nước vào bã gừng, ép lấy nước gừng lần nữa. Trộn đều nước gừng. Tẩm nước gừng với Hậu phác phiến cho thấm hết nước gừng, sao nhỏ lửa đến khô, phiến cong, vết nứt có sợi và màu nâu tía. Dùng 10 kg Gừng tươi hoặc 3 kg Gừng khô cho 100 kg Hậu phác.

Bảo quản

Trong bao bì kín để nơi khô ráo, tránh mất mùi thơm.

Tính vị, qui kinh

Khô, tân, ôn. Quy vào kinh tỳ, vị, phế, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Ôn trung hạ khí, táo thấp tiêu đờm. Chủ trị: Thượng vị đầy trướng, nôn mửa, tiết tả, thực tích, ho, suyễn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Tỳ vị hư yếu, nguyên khí kém, phụ nữ có thai thận trọng khi dùng.

HỒ TIÊU (Quả)

Fructus Piperis nigri

Quả đã làm khô của cây Hồ tiêu (*Piper nigrum* L.) họ Hồ tiêu (Piperaceae). Gồm hai loại: Toàn bộ quả gần chín (Hồ tiêu đen), hoặc quả đã bỏ thịt quả rồi phơi khô (Hồ tiêu trắng hay hồ tiêu sọ).

Mô tả

Hồ tiêu đen: Quả hình cầu, đường kính 3,5 mm đến 5 mm. Mặt ngoài màu nâu đen, có nhiều vết nhăn hình mạng lưới nổi lên. Đầu quả có vết của vòi nhụy nhỏ hơi nổi lên, gốc quả có vết sẹo của cuống quả. Chất cứng. Phần thịt quả có thể bóc ra được. Vỏ quả trong màu trắng tro hoặc màu vàng nhạt; mặt cắt ngang màu vàng nhạt. Quả có chất bột, trong có lỗ hồng nhỏ là vị trí của nội nhũ. Mùi thơm, vị cay.

Hồ tiêu sọ: Mặt ngoài màu trắng tro hoặc màu trắng vàng nhạt, nhẵn.

Vi phẫu

Vỏ quả ngoài cấu tạo bởi một lớp tế bào xếp không đều và hơi uốn lượn. Vòng mô cứng xếp sát vỏ quả ngoài. Tế bào mô cứng hình nhiều cạnh, thành dày, khoang hẹp, có ống trao đổi rõ, xếp thành đám sát nhau thành nhiều vòng liên tục. Vỏ quả giữa: Vùng ngoài cấu tạo bởi tế bào nhỏ, thành mỏng, nhẵn nhéo,

bị bẹp, kéo dài theo hướng tiếp tuyến, có nhiều tế bào chứa tinh dầu. Vỏ quả trong gồm tế bào mô cứng thành dày, phía trong và hai bên thành hình chữ U. Một lớp tế bào vỏ hạt xếp đều đặn, thành mỏng. Vùng ngoài nhũ rất rộng, phía ngoài gồm 2 đến 3 lớp tế bào nhỏ thành mỏng, ở sát vỏ hạt; phía trong gồm tế bào lớn hơn, thành mỏng chứa nhiều tinh bột và tế bào tiết tinh dầu. Đối diện với cuống quả có một vùng nội nhũ rất nhỏ, cây mầm nằm trong nội nhũ.

Bột

Hồ tiêu đen: Bột màu tro thẫm, tế bào đá ở vỏ ngoài hình gần vuông, chữ nhật hoặc không đều, đường kính 19 µm đến 66 µm, thành tương đối dày. Tế bào đá vỏ quả trong hình đa giác, đường kính 20 µm đến 30 µm, nhìn mặt bên có hình vuông, thành tế bào có một mặt mỏng. Tế bào vỏ hạt hình đa giác, màu nâu, thành dày mỏng không đều và có hình chuỗi hạt. Giọt dầu tương đối ít, hình tròn, đường kính 51 µm đến 75 µm. Hạt tinh bột rất nhỏ, thường tụ tập lại thành khối.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 3 ml *amoniac đậm đặc* (TT), trộn cho thấm đều, thêm 15 ml *cloroform* (TT), lắc, đun hồi lưu trong 15 phút, lọc. Cho dịch lọc vào bình gạn, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 2 %* (TT), lắc mạnh trong 1 phút, để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, gạn lấy phần acid, lọc trong lớp acid để làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch chiết acid, thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat* (TT), để yên 5 phút dung dịch sẽ đục.

Lấy 1 ml dịch chiết acid, thêm 6 giọt *thuốc thử Mayer* (TT), để yên 5 phút dung dịch sẽ đục.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - acetone (7 : 3 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu thô, thêm 20 ml *ethanol* (TT), đun cách thủy 15 phút, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch piperin trong *ethanol* (TT) có nồng độ 4 mg/ml. Nếu không có piperin, lấy khoảng 0,5 g bột Hồ tiêu (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol* (TT). Sấy bản mỏng ở 100 °C cho tới khi xuất hiện rõ các vết. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Hoặc

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Benzen - ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (8 : 2).

Dung dịch thử: Cát tinh dầu từ 10 g dược liệu bằng phương pháp cất kéo hơi nước (Phụ lục 12.7). Pha loãng 0,2 ml tinh dầu với 0,5 ml *cloroform* (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 10 g bột Hồ tiêu (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, phơi khô bản mỏng trong không khí, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric* (TT). Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 10 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng giá trị R_f và cùng màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tỷ lệ vụn nát

Hạt lép: 100 hạt hồ tiêu phải cân được ít nhất 4 g (Phụ lục 12.12).

Hàm lượng tinh dầu

Không dưới 2,5 % tính theo dược liệu khô kiệt (Phụ lục 12.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 8,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 %* (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào cuối mùa thu đến mùa xuân năm sau, hái lấy quả xanh thẫm khi chùm quả xuất hiện 1 đến 2 quả chín đỏ hay vàng, phơi hay sấy khô ở 40 °C đến 50 °C, quả ngả sang màu đen thẫm gọi là Hồ tiêu đen (hắc Hồ tiêu). Còn hái quả lúc thật chín đỏ, ngâm dưới nước chảy 3 đến 4 ngày, sát bỏ thịt quả và vỏ đen, phơi khô. Dược liệu có màu trắng ngà, vị cay gọi là Hồ tiêu trắng (Hồ tiêu sọ).

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, vụn nát, khi dùng tán thành bột mịn.

Bảo quản

Nơi khô, mát, trong bao bì kín.

Tính vị, qui kinh

Tân, nhiệt. Quy vào kinh vị, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Ôn trung tán hàn, kiện vị chỉ đau. Chủ trị: Vị hàn gây nôn mửa, tiêu chảy đau bụng và khó tiêu, chán ăn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 0,6 g đến 1,5 g, dạng thuốc bột, dùng ngoài với lượng thích hợp.

Kiêng kỵ

Âm hư, hỏa vượng, trĩ, táo bón không nên dùng.

HOẮC HƯƠNG

Herba Pogostemonis

Bộ phận trên mặt đất, đã phơi khô của cây Hoắc hương [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.], họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Thân hình trụ vuông, phân nhiều cành, cành hơi cong, dài 30 cm đến 60 cm, đường kính 2 mm đến 7 mm, có lông tơ. Chất giòn, dễ gãy, ở mặt gãy thấy tủy rõ. Thân già gần hình trụ, đường kính 10 mm đến 12 mm, màu nâu xám. Lá mọc đối, thường là một khối nhàu nát; lá nguyên hình trứng hoặc hình elip, dài 4 cm đến 9 cm, rộng 3 cm đến 7 cm, cả hai mặt lá màu lục xám có lông mượt như nhung, chóp lá hơi nhọn hoặc tròn, gốc lá vát nhọn hoặc tròn, mép lá có răng cưa không đều, cuống lá thon nhỏ dài 2 cm đến 5 cm, có lông. Mùi thơm đặc trưng, vị hơi đắng.

Vị phẫu

Lá: Biểu bì lá có nhiều lông che chở đa bào, gồm 2 tế bào đến 5 tế bào dài, đầu thuôn nhọn. Lông tiết tròn hay tròn dẹt. Biểu bì dưới có nhiều lỗ khí, lông che chở và lông tiết nhiều hơn biểu bì trên. Đám mô dày góc xếp sát biểu bì trên và biểu bì dưới của gân lá. Mô mềm phiến lá có các tế bào thành mỏng. Bó libe-gỗ ở giữa gân lá có libe phía dưới, gỗ phía trên. Phiến lá có mô giậu ở trên, mô khuyết ở dưới.

Bột

Bột lá có màu nâu xám, có mùi thơm đặc trưng, có vị tê nhẹ. Soi kính hiển vi thấy: Những mảnh biểu bì mang lỗ khí. Nhiều lông tiết lớn (đa bào), đường kính 30 μ m đến 70 μ m và các lông tiết nhỏ với đầu có 1 tế bào đến 3 tế bào chân rất ngắn. Rải rác có các mảnh mạch xoắn, mạch điểm, mảnh cánh hoa. Hạt phấn hoa có đường kính 20 μ m đến 30 μ m.

Định tính

A. Dưới ánh sáng tử ngoại, bột Hoắc hương có màu nâu gụ.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ether dầu hòa (30 °C đến 60 °C) - ethyl acetat - acid acetic băng (95 : 5 : 0,2).

Dung dịch thử: Pha loãng 0,5 ml tinh dầu thu được ở phần định lượng tinh dầu trong dược liệu với 5 ml ethyl acetat (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 ml tinh dầu cất được từ Hoắc hương (mẫu chuẩn) pha trong 5 ml ethyl acetat (TT) được dung dịch đối chiếu.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 μ l đến 2 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch sắt (III) clorid 5 % trong ethanol* (TT), sấy bản mỏng ở 105 °C cho tới khi

các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ.

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 3,150 mm: Không quá 10 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).

Không quá 2,0 %.

Lá: Không dưới 20,0 %

Tro toàn phần

Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 2,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi.

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp "Định lượng tinh dầu trong dược liệu" (Phụ lục 12.7).

Cân chính xác khoảng 25 g dược liệu đã tán thành bột thô vào bình cầu có dung tích 500 ml của bộ dụng cụ định lượng tinh dầu trong dược liệu, thêm 200 ml nước, tiến hành cất trong 3 giờ.

Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu không được ít hơn 3,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Khi cây có cành lá xum xuê, cắt lấy phần cây trên mặt đất, ngày phơi, đêm đậy kín, làm nhiều lần như vậy cho đến khi dược liệu khô.

Bào chế

Loại bỏ rễ còn sót lại và các tạp chất, lấy lá sạch để riêng. Rửa sạch thân, ủ mềm, cắt đoạn, phơi khô, rồi trộn đều thân với lá.

Bảo quản

Đề nơi mát, khô.

Tính vị, quy kinh

Tân, vị ôn. Vào các kinh tỳ, vị, phế.

Công năng, chủ trị

Giải thử, hóa thấp, chỉ nôn. Chủ trị: Chữa cảm nắng, hoắc loạn, bụng đầy trướng, nôn mửa, ỉa chảy.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc, hãm hay bột.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người âm hư, khí hư.

HOÀNG BÁ (Vỏ thân)***Cortex Phellodendri***

Vỏ thân và vỏ cành (đã cạo bỏ lớp bần) phơi hay sấy khô của cây Hoàng bá (*Phellodendron chinense* Schneid. hoặc *Phellodendron amurense* Rupr.), họ Cam (Rutaceae).

Mô tả

Vỏ thân màu vàng nâu, dày 0,3 cm đến 0,5 cm, dài 20 cm đến 40 cm, rộng 3 cm đến 6 cm. Mặt ngoài còn sót lại lớp bần màu nâu đất, có những vết lõm sần sùi và rãnh dọc, mặt trong màu nâu nhạt, có nhiều vết nhẵn dọc nhỏ, dài, vết bẻ lõm chòm, chất rắn, nhẹ, màu vàng rom.

Vỏ cành dày 0,15 cm đến 0,20 cm, mảnh dài cuộn lại thành hình ống. Mặt ngoài có lớp thụ bì màu nâu xám, khi bong ra để lộ lớp bần màu nâu sẫm, trên có lấm tấm nhiều vết lỗ vỏ, mặt trong màu nâu nhạt hơn, có những vết nhẵn nhỏ, dọc. Chất giòn, dễ bẻ, mặt bẻ lõm chòm, để lộ mô mềm màu vàng rom.

Vị phẫu

Lớp bần còn sót lại rất mỏng gồm vài hàng tế bào hình chữ nhật dẹt. Mô mềm vỏ chiếm 1/3 bề dày vỏ thân, gồm những tế bào có thành mỏng, nhiều đám sợi rải rác và có tinh thể calci oxalat hình thoi. Lớp libe cấp 2 dày, chiếm 2/3 bề dày vỏ thân, có nhiều đám sợi nằm trong libe, có thành dày, khoang hẹp; bên cạnh có tinh thể calci oxalat hình thoi. Tia ruột gồm 2 đến 4 dãy tế bào hình chữ nhật, thành mỏng, xếp ngoằn ngoèo theo hướng xuyên tâm.

Bột

Màu vàng tươi, không mùi, vị rất đắng. Soi kính hiển vi thấy: Rất nhiều đám sợi mang tinh thể calci oxalat hình lăng trụ, có đám sợi màu vàng nâu, hoặc vàng tươi, có đám sợi đứng riêng lẻ, thành dày. Mảnh mô mềm vỏ với các tế bào hình gần tròn. Mảnh bần (còn sót lại) gồm các tế bào hình chữ nhật, thành hơi uốn lượn, màu vàng nâu. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại mặt cắt ngang dược liệu và bột vỏ thân có phát quang màu vàng tươi sáng.

Định tính

A. Lấy 0,2 g bột dược liệu, thêm 3 ml nước, đun nhẹ, lọc lấy 2 ml dịch lọc, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric* 1 % (TT) thêm dần *dung dịch bão hòa clor trong nước* (TT). Để yên 10 phút, chỗ tiếp xúc giữa 2 lớp chất lỏng có 1 vòng màu đỏ sẫm.

B. Lấy 0,2 g bột dược liệu, thêm 1 ml *ethanol* 90 % (TT), đun nhẹ, lọc. Lấy 1 đến 2 giọt dịch lọc nhỏ trên lam kính, hơi nhẹ trên đèn cồn đến gần khô, thêm 1 giọt *dung dịch acid nitric* 25 % (TT) hoặc 1 giọt *acid hydrochloric* (TT), đẩy lá kính mỏng lên. Sau 20 phút soi kính hiển vi thấy những tinh thể hình kim màu vàng tươi.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - aceton (7 : 3 : 1,5).

Dung dịch thử: Lấy 0,1 g bột dược liệu, thêm 5 ml methanol (TT), đun nhẹ trong cách thủy, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 1 mg berberin clorid chuẩn trong methanol (TT) để được dung dịch có nồng độ 1mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang màu vàng sáng cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của berberin clorid chuẩn đặt được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu phun thuốc thử vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT), trên sắc ký đồ của dung dịch thử xuất hiện nhiều vết, cùng có màu sắc và giá trị R_f với vết của berberin clorid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp gồm Acetonitril - Dung dịch acid phosphoric 0,1% (50 : 50), thêm vào mỗi 100 ml hỗn hợp 0,1 g natri dodecylsulfonat (TT).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng berberin clorid chuẩn trong pha động để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,1 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,1 g bột dược liệu (qua rây 710) vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml pha động, lắc siêu âm trong 40 phút, để nguội, thêm pha động đến vạch, lắc đều, lọc.

Điều kiện sắc ký

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5µm).

Detector quang phổ tử ngoại khả kiến đặt ở bước sóng 265 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 - 1,5 ml/min.

Cách tiến hành

Tiêm 5 µl dung dịch chuẩn vào hệ thống sắc ký, tiến hành sắc ký theo điều kiện đã mô tả, số đĩa lý thuyết của cột sắc ký tính theo pic berberin clorid không được thấp hơn 4000.

Tiêm riêng biệt 5 µl dung dịch chuẩn và 5 - 20 µl dung dịch thử (dùng thể tích tiêm thích hợp sao cho diện tích pic berberin trong sắc ký đồ của dung dịch thử tương ứng với dung dịch chuẩn), tiến hành sắc ký theo điều kiện đã mô tả, ghi nhận sắc ký đồ. Căn cứ

vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và dựa vào nồng độ của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng berberin clorid trong dược liệu.

Hàm lượng berberin clorid, ($C_{20}H_{18}NO_4Cl$), không được ít hơn 2,5 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Vỏ thân và vỏ cành cạo sạch lớp vỏ, cắt thành từng miếng, phơi hoặc sấy khô ở 50 °C.

Bảo quản

Đề nơi thoáng gió, khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Khô, hàn. Vào các kinh thận, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt táo thấp, tư âm giáng hỏa, giải độc. Chủ trị: Âm hư phát sốt, xương đau âm ỉ, ra mồ hôi trộm; viêm tiết niệu; tả lỵ thấp nhiệt; hoàng đản; mụn nhọt lở ngứa.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán.

Kiểm kê

Tỷ hư, đại tiện lỏng, ăn uống không tiêu không nên dùng.

HOÀNG CẨM (RỄ)

Radix Scutellariae

Rễ đã phơi hay sấy khô và cạo vỏ của cây Hoàng cầm (*Scutellaria baicalensis* Georgi), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Rễ hình chùy, vặn xoắn, dài 8 cm đến 25 cm, đường kính 1 cm đến 3 cm. Mặt ngoài nâu vàng hay vàng thẫm, rải rác có các vết của rễ con hơi lồi, phần trên hơi ráp, có các vết khía dọc vặn vẹo hoặc vân dạng mạng; phần dưới có các vết khía dọc và có các vết nhăn nhỏ. Rễ già gọi là Khô cầm, mặt ngoài vàng, trong rỗng hoặc chứa các vụn mục màu nâu đen hoặc nâu tối. Rễ con gọi là Điều cầm, chất cứng chắc, mịn, ngoài vàng, trong màu xanh vàng, giòn, dễ bẻ. Hoàng cầm không mùi. Vị hơi đắng. Rễ to, dài, rắn chắc màu vàng đã nạo sạch vỏ là tốt. Rễ ngắn, chất xốp màu thẫm, thô, nhỏ là loại xấu.

Bột

Màu vàng hay vàng nâu, sợi libe rải rác hoặc tập hợp thành bó, hình thoi, dài 60 µm đến 250 µm, đường kính 9 µm đến 33 µm, thành dày, ống lỗ nhỏ. Tế bào đá hơi tròn hoặc hình vuông hay hình chữ nhật, thành dày hay rất dày. Tế bào bản màu vàng nâu, nhiều cạnh. Mạch nhiều, thường có hình mạng lưới, đường kính 24 µm đến 27 µm. Sợi gỗ thường đứt gãy, đường kính 12 µm với các lỗ xiên rải rác. Nhiều hạt

ting bột, hạt đơn hình cầu đường kính 2 μm đến 10 μm , có rốn nổi rõ, có khi hạt kép 2 đến 3.

Định tính

A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol* (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 15 phút, lọc. Lấy dịch lọc tiến hành các phản ứng sau :

Lấy 1 ml dịch lọc nhỏ thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch chì acetat* 9,5 % (TT), sẽ có tủa màu vàng.

Lấy 1 ml dịch lọc khác, cho thêm 1 ít bột *magnesi* (TT) và 3 giọt đến 4 giọt *acid hydrochloric* (TT) sẽ có màu đỏ.

B. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ether* (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 5 phút, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô, hòa tan căn trong 10 ml *ethanol* (TT).

Lấy 3 ml dung dịch, nhỏ thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch sắt* (III) *clorid* 5 % (TT), xuất hiện màu lục xám sau chuyển thành màu nâu tía.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Trong 1 bình nón đã biết khối lượng, cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu đã rây qua rây có kích thước mắt rây 355 μm . Cho thêm đúng 100 ml *nước*, cân. Đun hồi lưu trong 2 giờ, để nguội. Cân lại bình trên, bổ sung lượng nước hao hụt trong khi đun. Lắc đều, lọc qua giấy lọc khô, loại bỏ phần dịch lọc đầu. Lấy chính xác 20 ml dịch lọc tiếp sau, cho vào cốc có mỏ, điều chỉnh bằng *acid hydrochloric* (TT) đến pH 1 đến 2. Bốc hơi dịch lọc trong cách thủy đến còn khoảng 2 ml, đổ vào một ống ly tâm có dung tích 10 ml, rửa cốc có mỏ bằng *nước*, mỗi lần 5 giọt, chuyển hết căn từ cốc vào ống, đem ống quay ly tâm, căn sẽ bám chặt đáy ống. Rửa căn bằng *aceton* (TT) mỗi lần 0,5 ml, lại quay ly tâm và rửa đến khi *aceton* không có màu. Loại bỏ dịch *aceton*. Cạo tủa cho vào bình định mức 100 ml cùng với *ethanol* (TT), đun nóng nhẹ để hòa tan tủa. Để nguội ở nhiệt độ phòng. Thêm *ethanol* (TT) vào bình cho vừa đủ dung tích 100 ml, lắc đều. Lấy chính xác 5 ml dung dịch trên, cho vào một bình định mức 50 ml, cho thêm *ethanol* (TT) vừa đủ 50 ml, lắc đều. Tiến hành đo quang phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng $279 \pm 1 \text{ nm}$. Tính hàm lượng baicalin ($\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$) trong dược liệu theo A (1 %, 1 cm), lấy 673 là giá trị của A (1 %, 1 cm) ở 279 nm. Dược liệu phải chứa không dưới 8,0 % flavonoid tính theo baicalin ($\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân, mùa thu, đào lấy rễ, loại bỏ thân, lá, rễ con, đất cát, phơi khô, đập bỏ lớp ráp ngoài (vỏ thô), đến khi vỏ màu nâu vàng thì đem phơi khô.

Bào chế

Hoàng cầm: Loại bỏ tạp chất, thân còn sót lại, ngâm vào nước lạnh hoặc ngâm vào nước sôi 10 phút, hoặc đồ trong 30 phút, lấy ra ủ cho mềm, thái phiến mỏng, phơi hoặc sấy khô (tránh phơi nắng to). Dược liệu là phiến mỏng hình tròn hoặc hình không đều, vỏ ngoài màu vàng nâu đến màu nâu, mặt cắt màu vàng nâu đến vàng lục có vân xuyên tâm.

Từ Hoàng cầm (chế rượu): Hoàng cầm đã thái phiến mỏng, phun rượu cho ướt, trộn đều. Dùng lửa nhỏ sao qua, đem phơi khô. Cứ 10 kg Hoàng cầm dùng 1,5 lít rượu.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn. Vào các kinh tâm, phế, can đờm, đại trường, tiểu trường.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt táo thấp, tả hỏa giải độc, an thai. Chủ trị: Phế nhiệt ho đờm đặc, đau sưng họng, nôn ra máu, máu cam, viêm gan mật, kiết lỵ, tiêu chảy, mụn nhọt, lở ngứa, động thai chảy máu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Người tỳ vị hư hàn, không có thấp nhiệt, thực hỏa thì không nên dùng.

HOÀNG ĐĂNG (Thân và rễ)

Caulis et Radix Fibraureae

Thân và rễ đã phơi hay sấy khô của cây Hoàng đằng (*Fibraurea recisa* Pierre và *Fibraurea tinctoria* Lour.), họ Tiết dê (Menispermaceae).

Mô tả

Những đoạn thân và rễ hình trụ thẳng hoặc hơi cong, dài 10 cm đến 30 cm, đường kính 1 cm đến 3 cm, có khi tới 10 cm. Mặt ngoài màu nâu có nhiều vân dọc và sọc của cuống lá (đoạn thân) hay sọc của rễ con (đoạn rễ). Mặt cắt ngang có màu vàng gồm 3 phần rõ rệt: Phần vỏ hẹp, phần gỗ có những tia ruột xếp thành hình nan hoa bánh xe, phần ruột ở giữa tròn và hẹp; thể chất cứng, khó bẻ gãy, vị đắng.

Vĩ phẫu

Cả 2 loài có cấu tạo thân và rễ giống nhau.

Thân: Lớp bản còn sót lại gồm nhiều hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng có hình gần tròn, hình trứng hay hình chữ nhật, rải rác có những tế bào mô cứng, thành dày, khoang rộng có nhiều vân rõ. Tinh thể calci oxalat hình lập phương, hình chữ nhật hay hình thoi nằm

trong các tế bào mô cứng hoặc gần các tế bào mô cứng. Vòng mô cứng liên tục, uốn lượn, lồi lõm theo các bó libe-gỗ, gồm những tế bào thành dày, khoang rộng, rải rác cũng có tinh thể calci oxalat. Bó libe nằm sát vòng mô cứng, phân cách nhau bởi các tia ruột hẹp, gồm 2 đến 3 hàng tế bào hình chữ nhật. Bó gỗ gồm nhiều mạch gỗ to, phân cách nhau bởi những tia ruột, rải rác cũng có vài tế bào mô cứng. Mô mềm ruột gồm những tế bào tròn hay nhiều cạnh.

Rễ: Lớp bản còn sót lại gồm những tế bào hình chữ nhật thành dày. Tầng phát sinh ngoài gồm 1 lớp tế bào thành mỏng xếp đều đặn. Mô mềm vỏ cấu tạo bởi những tế bào thành mỏng, vòng mô cứng liên tục gồm những tế bào thành dày hóa gỗ, có vân rõ, rải rác nhiều tinh thể calci oxalat hình lập phương hoặc hình thoi. Libe và gỗ cấp 2 chia thành 2 hoặc 3 nan quạt. Mỗi nan quạt bị các tia ruột rộng cắt thành nhiều nhánh.

Bột

Bột màu vàng. Soi dưới kính hiển vi thấy: Tế bào mô cứng hình chữ nhật, hình thoi hoặc gần như tròn màu vàng. Mạch mạch điểm, mạch vạch. Mạch mô mềm có tế bào chứa tinh bột. Tinh thể calci oxalat hình lập phương hay hình khối chữ nhật. Các hạt tinh bột có dạng tròn, hình chuông hay hình trái xoan, có nhiều hạt kép đôi, rõ ràng, đường kính 10 µm đến 23 µm.

Định tính

A. Quan sát lát cắt dược liệu dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm sẽ thấy phát quang màu vàng tươi.

B. Lấy 0,1 g bột dược liệu, thêm 3 ml đến 4 ml *dung dịch acid sulfuric 1 % (TT)*, lắc kỹ, lọc, lấy 2 ml vào ống nghiệm, thêm 0,5 ml *nước clor (TT)* từ từ dọc thành ống nghiệm, giữa 2 lớp dung dịch sẽ có một vòng màu đỏ.

C. Lấy 0,2 g bột dược liệu, thêm 2 ml *ethanol 90 % (TT)*, ngâm trong 1 giờ. Lọc lấy dịch chiết, nhỏ lên phiến kính 1 giọt dịch chiết, rồi nhỏ vào đó 1 giọt *dung dịch acid nitric 32 % (TT)*. Sau 5 đến 10 phút đem soi kính hiển vi sẽ quan sát thấy những tinh thể hình kim màu vàng.

D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: *n-Butanol - acid acetic - nước* (7 : 1 : 2).

Dung dịch thử: Lấy 0,1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun cách thủy 2 đến 3 phút, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch palmatin clorid 0,1 % trong *ethanol 90 % (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ít nhất 2 vết màu vàng, trong đó có 1 vết có cùng màu và giá trị R_f với vết palmatin clorid

trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Khi phun lên bản mỏng *thuốc thử Dragendorff (TT)*, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu đỏ cam và giá trị R_f với vết palmatin clorid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu, cho vào bình Soxhlet có dung tích 125 ml, chiết bằng *ethanol 96 % (TT)* đến khi dịch chiết ethanol hết màu vàng. Cát thu hồi dung môi. Hòa tan cặn trong 20 ml *nước cất* nóng. Để trong tủ lạnh 6 giờ cho tủa hết nhựa. Lọc lấy dịch trong, rửa bình và phễu 2 lần, mỗi lần dùng 5 ml *nước*. Thêm vào dịch lọc *dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT)* cho đến pH 1 đến 2. Để trong tủ lạnh 10 đến 12 giờ, lọc lấy tủa màu vàng qua phễu lọc xốp số 4 (đường kính lỗ xốp 10 µm đến 16 µm), dùng 5 ml *nước* để kéo hết tủa trong bình vào phễu. Hòa tan tủa trong 20 ml *ethanol 90 % (TT)* nóng, lọc vào 1 bình đã cân bì, rửa phễu bằng 5 ml *ethanol 90 % (TT)* nóng, làm bốc hơi ethanol. Sấy cặn ở 100 °C đến khối lượng không đổi rồi cân. Hàm lượng alcaloid toàn phần (X %) được tính theo công thức:

$$X \% = \frac{a}{b} \times 100$$

Trong đó:

a là cặn thu được tính bằng g;

b là khối lượng bột dược liệu đem định lượng đã trừ độ ẩm tính bằng g.

Dược liệu phải chứa ít nhất 1,0 % alcaloid toàn phần tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Lấy rễ và thân cây Hoàng đằng, rửa sạch, cạo sạch lớp bản, cắt thành từng đoạn phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, qui kinh

Khô, hàn. Vào các kinh tâm, can, đờm, vị.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt tiêu viêm, lợi thấp, giải độc. Chủ trị: Chữa đau mắt đỏ, viêm họng, mụn nhọt mẩn ngứa, kiết lỵ, viêm bàng quang.

Cách dùng, liều lượng

Ngày từ 6 g đến 12 g dưới dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Bệnh thuộc hàn không nên dùng.

HOÀNG KỲ (RỄ)***Radix Astragali membranacei***

Rễ phơi hay sấy khô của cây Hoàng Kỳ Mông Cổ [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao, hoặc cây Hoàng Kỳ Mạc Giáp (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.)], họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Rễ hình trụ, đôi khi phân nhánh, trên to, phần dưới nhỏ dần, dài 30 cm đến 90 cm, đường kính 1 cm đến 3,5 cm. Mặt ngoài màu vàng hơi nâu nhạt hoặc màu nâu nhạt, với nếp nhăn dọc và rãnh dọc không đều. Chất cứng, dai, không dễ bẻ gãy, mặt gãy nhiều sợi và nhiều tinh bột; phần vỏ màu trắng hơi vàng, gỗ màu vàng nhạt với những vết nứt và tia hình nan quạt. Phần giữa của rễ già, đôi khi có dạng gỗ mục nát, màu nâu hơi đen hoặc rỗng. Mùi thơm nhẹ, vị hơi ngọt và hơi tanh như mùi đậu khi nhai.

Vĩ phẫu

Mặt cắt ngang rễ: Lớp vỏ gồm nhiều hàng tế bào xếp thành vòng đồng tâm và dãy xuyên tâm. Dưới lớp vỏ là mô mềm vỏ các tế bào thường bị ép bẹt; lục bì có 2 đến 3 hàng tế bào mô dày. Phần ngoài của libe thường cong và có khe nứt, có các sợi xếp thành bó, thành tế bào dày lên và hóa gỗ hoặc hơi hóa gỗ, sắp xếp xen kẽ với các bó mạch rây. Tế bào đá đôi khi thấy rõ ở gần lục bì. Tầng phát sinh libe-gỗ thành vòng liên tục. Mạch gỗ rải rác, dạng mạch đơn hay tụ hợp thành nhóm 2 đến 3 cái; có sợi gỗ ở giữa các mạch; tế bào cứng đơn chiếc hoặc hợp thành những nhóm 2 đến 3 cái, đôi khi nhìn thấy từng dãy. Tế bào mô mềm có chứa các hạt tinh bột.

Bột

Màu trắng hơi vàng, các sợi hợp thành bó hoặc rải rác, đường kính 8 µm đến 30 µm, thành sợi dày có khe nứt dọc trên bề mặt, 2 đầu sợi thường bị gãy thành dạng tua hoặc hình hơi cụt. Các mảnh mạch vạch; rải rác có các tế bào cứng hình tròn hoặc không đều, thành hơi dày. Nhiều hạt tinh bột đơn hoặc kép đôi kép ba hình gần tròn hoặc hình trứng nằm rải rác hoặc tập trung thành đám đường kính 4 µm đến 16 µm. Tinh thể calci oxalat hình khối nằm rải rác hoặc tập trung trong bó sợi. Mảnh mô mềm chứa hạt tinh bột.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Hệ dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - nước* (65 : 35 : 10).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 3 g bột dược liệu, thêm 20 ml *methanol* (TT) đun sôi hồi lưu 1 giờ trên cách thủy, để nguội, lọc. Dịch lọc cho chảy qua một cột sắc ký đã được nhồi 5 g *nhôm oxyd trung tính*, có cỡ hạt

từ 100 µm đến 120 µm, cột có đường kính trong 10 mm đến 15 mm. Phản hấp phụ bằng 100 ml *methanol* 40 % (TT); dịch phản hấp phụ được bốc hơi trên cách thủy đến khô. Cẩn được hòa trong 30 ml *nước* rồi được chiết bằng *n-butanol* đã bão hòa *nước* (TT) 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết *n-butanol*, rửa bằng *nước* 2 lần, mỗi lần 20 ml, loại bỏ *nước* rửa, bốc hơi dịch chiết *n-butanol* trên cách thủy đến khô. Hòa cẩn trong 0,5 ml *methanol* (TT), được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan chất đối chiếu astragalosid IV trong *methanol* (TT) để được dung dịch đối chiếu có nồng độ 1 mg/ml. Nếu không có astragalosid IV thì lấy khoảng 3 g bột Hoàng kỳ (mẫu chuẩn), tiến hành chiết giống như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun thuốc hiện màu là *dung dịch acid sulphuric 10 % trong ethanol* (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 phút. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết cùng màu và cùng giá trị R_f với vết astragalosid IV trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu chuẩn bị từ dược liệu chuẩn.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 17,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Sử dụng phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch rễ vào mùa xuân, mùa thu, loại bỏ rễ con và thân rồi phơi khô.

Bào chế

Hoàng kỳ: Loại bỏ tạp chất, phân loại to, nhỏ, rửa sạch, ủ mềm, thái phiến dày, phơi khô.

Mật chích Hoàng kỳ (chế mật): Hoàng kỳ đã thái phiến, lấy mật ong, hòa với ít *nước* sôi, trộn đều, ủ cho ngấm, sao nhỏ lửa cho vàng, khi sò không dính tay thì lấy ra để nguội. Cứ 10 kg Hoàng kỳ dùng 2,5 kg đến 3,0 kg Mật ong.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, ôn. Vào các kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị

Bổ khí cố biểu, lợi tiểu, trừ mủ, sinh cơ. Chủ trị: Khí hư mệt mỏi, kém ăn; trung khí hạ hãm, tiêu chảy lâu

ngày, sa tạng phủ, tiện huyết, rong huyết; ra mồ hôi; nhọt độc khó vỡ; nội nhiệt tiêu khát; viêm thận mạn.

Hoàng kỳ kích mật: Kiện tỳ ích khí.

Sinh Hoàng kỳ: Cố biểu, lợi tiểu, trừ mù sinh cơ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 30 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán.

HOÀNG LIÊN (Thân rễ)

Rhizoma Coptidis

Thân rễ phơi khô của nhiều loài Hoàng liên chân gà như *Coptis chinensis* Franch., *Coptis quinquesecta* Wang, hoặc *Coptis teeta* Wall., họ Hoàng liên (Ranunculaceae).

Mô tả

Thân rễ là những mẫu cong queo, dài 3 cm trở lên, đường kính 0,2 cm đến 0,8 cm, có nhiều đốt khúc khuỷu và phân nhiều nhánh. Mặt ngoài màu vàng nâu hay vàng xám, mang vết tích của rễ con và cuống lá. Chất cứng rắn, vết bẻ ngang không phẳng, phần gỗ màu vàng tươi, tia ruột có chỗ rách, phần vỏ và ruột màu vàng đỏ, cũng có khi hồng. Không mùi, vị rất đắng và tồn tại lâu.

Vi phẫu

Mặt cắt ngang thân rễ gần tròn, từ ngoài vào trong quan sát thấy: Lớp thụ bì bao gồm tầng hóa bản và lớp mô mềm vỏ ngoài đã chết. Lớp bản thứ cấp cấu tạo bởi các tế bào thành mỏng, xếp đều đặn. Tầng phát sinh bản. Mô mềm vỏ trong cấu tạo bởi các tế bào hình đa giác thành mỏng hơi nhẵn nhéo, xếp lộn xộn, rải rác có các tế bào mô cứng hình đa giác, thành rất dày hợp thành từng đám. Sợi tập hợp thành đám tạo thành vòng tròn rời nhau, tế bào sợi nhỏ hơn tế bào mô cứng, có thành dày khoang hẹp. Libe xếp thành từng đám tương ứng với các sợi bên ngoài và đứng sát với mặt trong của đám sợi. Tầng phát sinh libe-gỗ. Phần gỗ dày, gỗ phía trong liền nhau tạo thành vòng liên tục, gỗ phía ngoài bị phân cách bởi các tia ruột rộng tạo thành các nhánh riêng biệt. Trong cùng là mô mềm ruột, cấu tạo bởi các tế bào hình đa giác, nhẵn nhéo xếp đều nhau và có khuyết tế bào rộng.

Bột

Màu vàng, vị rất đắng. Quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 365 nm, có huỳnh quang màu vàng tươi. Soi dưới kính hiển vi thấy: Tế bào mô cứng màu vàng hình tròn hay nhiều cạnh có thành dày, khoang rộng, có ống trao đổi. Mảnh mô mềm có tế bào chứa hạt tinh bột. Hạt tinh bột hình trứng hay bầu dục, dài 9 µm đến 12 µm, rộng khoảng 5 µm, mảnh bản màu vàng nâu gồm những tế bào hình nhiều cạnh. Mảnh mạch chấm, mạch vạch. Sợi là các tế bào hình chữ

nhật, dài, thành dày, đứng riêng lẻ hay tập hợp thành bó.

Định tính

A. Lấy một ít bột dược liệu đặt trên phiến kính, nhỏ 2 giọt đến 3 giọt *ethanol* 96 % (TT) và 1 giọt *dung dịch acid nitric* 30 % (TT), để yên 5 phút đến 10 phút rồi đem quan sát dưới kính hiển vi, thấy xuất hiện những tinh thể hình kim nhỏ màu vàng, đun nóng tiêu bản, tinh thể mất đi và dung dịch có màu hồng.

B. Lấy 0,1 g bột dược liệu, ngâm 2 giờ với 10 ml nước, lấy 2 ml nước ngâm, thêm 1 giọt *acid sulfuric* (TT) rồi thêm dần *dung dịch bão hòa clor trong nước* (TT). Giữa hai lớp chất lỏng có màu đỏ thẫm.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *n-Butanol - acid acetic* băng - nước (7 : 1 : 2).

Dung dịch thử: Lấy 0,1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *methanol* (TT), lắc mạnh trong 30 phút, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan riêng biệt 0,5 mg *berberin clorid* vào 1 ml *methanol* (TT) và 0,5 mg *palmatin clorid* vào 1 ml *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của *berberin clorid* và *palmatin clorid* đặt được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Định lượng đồng thời *berberin* và *palmatin* bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 3,4 g *kali dihydrophosphat* (TT), 1,7 g *natri laurylsulfat* (TT) trong 1000 ml hỗn hợp dung môi gồm nước - *acetonitril* (1 : 1), lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Pha một dung dịch chuẩn có chứa 0,015 mg *palmatin clorid* và 0,060 mg *berberin clorid* trong 1 ml *methanol* (TT).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,07 g bột dược liệu (qua rây có đường kính mắt rây 0,25 mm) vào bình nón nút mài có dung tích 100 ml, thêm 25 ml hỗn hợp dung môi gồm *methanol - acid hydrocloric* (100 : 1) và đun hồi lưu trên cách thủy 30 phút, để nguội, lọc lấy dịch chiết. Lấy bã dược liệu tiến hành

tương tự thêm 2 lần nữa. Gộp các dịch chiết, bốc hơi trên cách thủy tới cạn. Lắc cạn với nước nóng 5 lần, mỗi lần 15 ml, lọc và gộp các dịch lọc lại, làm bay hơi trên cách thủy tới cạn khô. Cắn được hòa tan trong *methanol* (TT) và chuyển vào bình định mức 50 ml, thêm *methanol* (TT) đến vạch, lắc đều, lọc qua giấy lọc có kích thước lỗ lọc 0,45 μm , thu được dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 μm) (Lichrosorb RP 18 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 345 nm.

Tốc độ dòng: 0,7 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl .

Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của các chuẩn, tính hàm lượng của berberin ($\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NO}_4$) và palmatin ($\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{NO}_4$) trong dược liệu.

Dược liệu phải chứa ít nhất 3,5 % berberin, ($\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NO}_4$), và 0,5 % palmatin, ($\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{NO}_4$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Đào lấy thân rễ già, rửa thật nhanh cho sạch đất cát, cắt bỏ rễ con và gốc thân, phơi hay sấy khô.

Bào chế

Chải rửa sạch (không ngâm), ủ vừa mềm, thái mỏng, phơi trong râm cho khô.

Chế rượu: Lấy Hoàng liên đã thái phiến, tẩm rượu, ủ 30 phút, sao khô. 1 kg dược liệu dùng 150 ml đến 200 ml rượu.

Chế gừng: Lấy Gừng tươi, rửa sạch, giã nát, thêm một lượng nước thích hợp, vắt lấy nước, trộn với dược liệu đã thái phiến, ủ 30 phút đến 60 phút, sao khô. 1 kg dược liệu dùng 200 g Gừng tươi.

Chế muối: Dùng dung dịch muối ăn 5 % trộn với dược liệu đã thái phiến, ủ 30 phút đến 60 phút, sao khô. 1 kg dược liệu dùng 150 ml dung dịch muối ăn 5 %.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị qui kinh

Vị đắng, tính hàn. Vào kinh tâm, tỳ, vị, can, đờm, đại tràng.

Công năng chủ trị

Thanh nhiệt táo thấp, thanh tâm, trừ phiền, thanh can sáng mắt, tả hỏa, giải độc. Chủ trị: Đau bụng, viêm ruột, ỉa lỵ, bôn chồn mắt ngủ, đau mắt đỏ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 2 g đến 12 g, dưới dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Âm hư phiền nhiệt, tỳ hư tiết tả không nên dùng.

HOÀNG NÀN (Vỏ thân, vỏ cành)

Cortex Strychni wallichianae

Vỏ thân hoặc vỏ cành đã phơi hay sấy khô của cây Hoàng nàn (*Strychnos wallichiana* Steud.ex DC.), họ Mã tiền (Loganiaceae).

Mô tả

Mảnh vỏ dày, thường có hình lòng máng hay cuộn tròn thành ống. Mặt ngoài có nhiều nốt sần màu nâu xám. Mặt trong màu nâu đen, có nhiều đường vân nhỏ chạy dọc, vỏ giòn, dễ bẻ gãy, vết bẻ không phẳng, vị rất đắng.

Vĩ phẫu

Lớp bản gồm nhiều lớp tế bào hình chữ nhật xếp thành vòng đồng tâm và dãy xuyên tâm, rải rác có chỗ nứt rách và bong ra. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng, các tế bào phía ngoài thường bị ép bẹt, có nhiều tinh thể calci oxalat hình khối, trong mô mềm có vòng mô cứng tạo thành vòng liên tục, gồm các tế bào thành dày hóa gỗ, khoang hẹp. Libe cấp 2 phát triển nhiều, bị tia ruột ngăn cách thành từng bó hình nón. Những tia ruột gồm 1 đến 3 dãy tế bào chạy xuyên qua phần libe và phát triển rộng ra có khi đến mô mềm vỏ.

Bột

Bột màu nâu sẫm, vị rất đắng. Soi dưới kính hiển vi thấy: Những mảnh bản màu vàng nâu gồm các tế bào nhiều cạnh thành dày, mảnh mô mềm có tế bào thành mỏng hình đa giác hay gần tròn mang tinh thể calci oxalat hình khối. Nhiều tế bào mô cứng thành rất dày, khoang hẹp nhìn thấy rõ các ống trao đổi. Nhiều tinh thể calci oxalat hình khối dài 25 μm đến 35 μm , rộng 10 μm đến 24 μm .

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu thấm ẩm bằng 1 ml *amoniac đậm đặc* (TT), thêm 10 ml *cloroform* (TT), lắc trong 5 phút. Lọc lớp *cloroform* qua giấy lọc có *natri sulfat khan* (TT). Chia dịch lọc làm hai phần rồi bốc hơi trên cách thủy tới khô.

Hòa tan một phần cắn trong 2 giọt đến 3 giọt *acid sulfuric* (TT), thêm vài tinh thể *kali dicromat* (TT), nghiêng chén sẽ xuất hiện những vết tím, mất màu nhanh (strychnin).

Thêm vào phần cắn còn lại 2 giọt đến 3 giọt *acid nitric* (TT), sẽ xuất hiện màu đỏ cam (brucin).

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Toluen* - *aceton* - *ethanol* - *amoniac đậm đặc* (4 : 5 : 0,6 : 0,4).

Dung dịch thử: Cho 0,5 g bột dược liệu vào bình nón nút mài, thêm 5 ml hỗn hợp *cloroform* - *ethanol* (10 : 1) và 0,5 ml *amoniac đậm đặc* (TT). Đậy nút và lắc trong

5 phút, để yên trong 1 giờ, thỉnh thoảng lắc đều, lọc, dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan strychnin và brucin chuẩn trong *cloroform* (TT) để được dung dịch có nồng độ từng chất là 2 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng và hiện màu bằng thuốc thử *Dragendorff* (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết strychnin và brucin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 17,0 % (Phụ 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón nút mài 250 ml. Thêm chính xác 2,0 ml *amoniac đậm đặc* (TT) và 100 ml hỗn hợp *ether ethylic - cloroform* (1 : 1). Đậy kín bình, để trong 24 giờ, thỉnh thoảng lắc. Để lắng, lọc nhanh lấy 50 ml dịch chiết ở trên qua giấy lọc gấp nếp, đặt trong phễu có nắp đậy và tiến hành ở chỗ mát. Dùng lần lượt 20, 20 và 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 4,0 %* (TT) để chiết alcaloid. Gộp các dịch chiết, kiểm hóa bằng *amoniac đậm đặc* (TT) đến pH 8 đến 9 (khoảng 2 ml) và chiết alcaloid bằng hỗn hợp *ether ethylic - cloroform* (1 : 1) lần lượt với 50 ml, 30 ml và 20 ml. Gộp dịch chiết và làm bay hơi hết dung môi, cặn còn lại được sấy khô ở 100 °C đến khối lượng không đổi, cân cân. Hàm lượng alcaloid toàn phần (X) trong dược liệu được tính theo công thức sau:

$$X (\%) = \frac{m \times 10.000 \times 2}{p \times (100 - a)}$$

Trong đó:

m là khối lượng cặn (g);

p là khối lượng dược liệu đem cân (g);

a là độ ẩm dược liệu (%).

Hàm lượng alcaloid không ít hơn 2,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Sơ chế

Khi trời khô ráo rạch lấy vỏ, đem phơi sấy khô.

Chế biến

Sau khi thu hoạch vỏ cây, vỏ cành to, phơi khô hay sấy nhẹ tới khô. Trước khi sử dụng cần phải chế biến. Ngâm dược liệu trong nước, hoặc nước vo gạo từ 12 giờ đến 24 giờ. Vớt ra, rửa sạch. Cạo bỏ lớp vỏ vàng bên ngoài và vỏ đen bên trong. Tiếp tục ngâm nước vo

gạo 3 ngày, 3 đêm. Mỗi ngày thay nước một lần. Rửa sạch. Phơi hoặc sấy khô. Thái편 nhỏ. Tẩm편 với dầu vùng hoặc dầu lạc. Sao vàng.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn, rất độc. Vào kinh can, tỳ.

Công năng, chủ trị

Trừ phong hàn thấp tý, chỉ thống, chỉ tả, sát trùng. Chủ trị: Đau nhức xương cốt, mình mảy, đau bụng, nôn, tiêu chảy, dùng trị ghê, ngứa.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần uống tối đa 0,1 g. Ngày dùng 2 đến 4 lần. Không quá 0,4 g/ngày. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Không dùng cho phụ nữ có thai, đang cho con bú, trẻ em dưới 5 tuổi.

HOÀNG TINH (Thân rễ)

Rhizoma Polygonati

Củ cây cơm nếp, Đại hoàng tinh, Hoàng tinh đầu gà, Hoàng tinh dạng gừng

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của một số loài hoàng tinh: *Polygonatum kingianum* Coll. Et Hemsl., *Polygonatum sibiricum* Red. hoặc *Polygonatum cyrtoneura* Hua., họ Mạch môn đông (Convallariaceae).

Dựa vào hình thái khác nhau, người ta còn phân biệt Đại hoàng tinh, Kê đầu hoàng tinh (hoàng tinh đầu gà), Khương hình hoàng tinh (hoàng tinh dạng gừng).

Mô tả

Đại hoàng tinh: Thân rễ nạc, dài hơn 10 cm, rộng 3 cm đến 6 cm, dày 2 cm đến 3 cm. Mặt ngoài màu vàng nhạt đến nâu vàng có các mấu vòng, nếp nhăn và vết sẹo rễ dạng sợi trên các mấu có vết tích của thân dạng vòng tròn lõm với phần giữa lồi lên. Chất cứng, dai, khó bẻ, mặt bẻ trông như sừng, màu vàng nhạt đến vàng nâu. Mùi thơm nhẹ, vị ngọt, dai dính.

Hoàng tinh đầu gà (Kê đầu hoàng tinh): Dược liệu có hình trụ, cong queo, dài 3 cm đến 10 cm, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm. Đốt dài 2 cm đến 4 cm, hơi có dạng chùy, thường phân nhánh. Mặt ngoài màu trắng ngà đến vàng xám, trong mờ với những nếp nhăn dọc, vết sẹo của thân hình tròn, đường kính 5 mm đến 8 mm.

Hoàng tinh dạng gừng (Khương hình hoàng tinh): Độ dài, ngắn không đều nhau, thường nối liền nhau thành nhóm vài củ. Mặt ngoài màu vàng xám hoặc nâu vàng, xù xì, phía trên có vết sẹo của thân hình tròn lồi, đường kính 0,8 cm đến 1,5 cm.

Độ ẩm

Không quá 18,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Nghiền nhỏ dược liệu, sấy khô vài giờ ở 80 °C trước khi tiến hành, tro toàn phần không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Phần gốc rễ còn sót và củ già đã xơ cứng: Không quá 2,0 %

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %

Chất chiết được trong dược liệu

Không được dưới 45,0 % tính theo dược liệu khô kiệt. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 50 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân, mùa thu, đào lấy thân rễ, cắt bỏ thân cây và rễ con, rửa sạch, luộc hoặc đồ đến hết lõi trắng, lấy ra, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Hoàng tinh: Lấy hoàng tinh sạch, ủ mềm, thái편 dày, phơi hoặc sấy khô.

Tửu Hoàng tinh (chế rượu): Lấy Hoàng tinh sạch, trộn với rượu, cho vào thùng dầy nắp, đun trong cách thủy để dược liệu hút hết rượu, lấy ra cắt lát dày, phơi khô. Cứ 100 kg Hoàng tinh dùng 20 lít rượu.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, bình. Vào các kinh tỳ, phế, thận.

Công năng, chủ trị

Kiện tỳ, nhuận phế, ích thận. Chủ trị: Tỳ vị hư nhược, cơ thể mệt mỏi, sức yếu, miệng khô, ăn kém, phế hư ho khan, tinh huyết bất túc, nội nhiệt tiêu khát.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 16 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ

Người phế vị có đờm thấp nặng, không nên dùng.

HOẠT THẠCH**Talcum**

Khoáng thạch thiên nhiên có thành phần chủ yếu là silicat ngậm nước $[Mg_3(Si_4O_{10})(OH)_2]$.

Mô tả

Cục to nhỏ không đều, màu trắng, vàng, hoặc xám, lam nhạt sáng óng ánh như sáp. Chất mềm, trơn mịn, không hút ẩm, không tan trong nước. Không mùi, không vị.

Định tính

Đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận bột talc.

Chế biến

Loại bỏ tạp chất, đất cát.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, đập vỡ thành miếng, nghiền khô thành bột mịn hoặc thủy phi bằng cách thêm đồng lượng nước, nghiền ướt. Thêm nước, khuấy, để lắng, gạn bỏ phần huyền phù và chất nổi, làm vài lần như vậy, gạn lấy lắng cặn, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, qui kinh

Cam, đạm, hàn. Quy vào kinh vị, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Lợi tiểu thẩm thấp, thanh nhiệt giải thử. Chủ trị: Lâm lậu, thạch lâm kèm tiểu khó và đau nóng, bứt rứt háo khát do thử thấp, tiết tả do thấp nhiệt.

Dùng ngoài trị thấp chân (eczema), thấp sang (lở loét), rôm sảy, chàm.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 20 g, dạng thuốc bột, sắc hoặc hòa với nước uống. Phối hợp trong các bài thuốc.

Dùng ngoài: Lượng thích hợp.

Kiêng kỵ

Không dùng cho phụ nữ có thai và người có chứng dương hư.

HÒE (Nụ hoa)***Flos Styphnolobii japonici imaturi***

Nụ hoa đã phơi hay sấy nhẹ đến khô của cây Hòe [*Styphnolobium japonicum* (L.) Schott, Syn. *Sophora japonica* L.], họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Nụ hoa hình trứng có cuống nhỏ, ngắn, một đầu hơi nhọn, dài 3 mm đến 6 mm, rộng 1 mm đến 2 mm, màu vàng xám. Đài hoa hình chuông, màu vàng xám, dài bằng 1/2 đến 2/3 chiều dài của nụ hoa, phía trên xẻ thành 5 răng nông. Hoa chưa nở dài từ 4 mm đến 10 mm, đường kính 2 mm đến 4 mm. Cánh hoa chưa nở màu vàng. Mùi thơm, vị hơi đắng.

Bột

Có nhiều hạt phấn hình cầu, đường kính 16 μm, có 3 lỗ rãnh, bề mặt có nếp nhăn dạng mắt lưới. Lông che chở đa bào gồm 2 tế bào đến 4 tế bào, tế bào ở phía đầu dài và thuôn nhọn, tế bào ở chân ngắn. Mảnh biểu bì cánh hoa gồm những tế bào hình nhiều cạnh có nhiều vân nhỏ, sát nhau. Mảnh biểu bì đài hoa gồm những tế bào hình nhiều cạnh có mang lỗ khí (kiểu thập tự) và lông che chở. Mảnh mạch xoắn.

Định tính

A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol* (TT). Đun sôi trong 3 phút, để nguội, lọc. Dịch lọc (dung dịch A) dùng làm các phản ứng sau và dịch chấm sắc ký lớp mỏng.

Lấy 2 ml dung dịch A pha loãng với 10 ml *ethanol* 90 % (TT) rồi chia vào 3 ống nghiệm:

Ống 1: Thêm 5 giọt *acid hydrochloric* (TT) và ít bột *magnesi* (TT), dung dịch chuyển dần từ màu vàng nhạt sang màu hồng rồi tím đỏ.

Ống 2: Thêm 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd* 20 % (TT), xuất hiện tủa vàng cam, tủa sẽ tan trong lượng dư thuốc thử.

Ống 3: Thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT), dung dịch có màu xanh rêu.

B. Nhỏ 2 giọt đến 3 giọt dung dịch A lên tờ giấy lọc, để khô, soi dưới đèn tử ngoại (ở bước sóng 366 nm) sẽ quan sát thấy huỳnh quang màu vàng nâu.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: n - butanol - acid acetic - nước (4: 1: 5).

Dung dịch thử: Dung dịch A.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan rutin chuẩn trong *ethanol* 90 % (TT) để được dung dịch có chứa 1 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng phát quang màu nâu và cùng giá trị R_f với vết rutin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Hiện màu bằng hơi *amoniac đậm đặc* (TT), trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu vàng có cùng giá trị R_f với vết rutin chuẩn (R_f 0,5 đến 0,54) trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ hoa đã nở: Không quá 10,0 %

Tỷ lệ hoa sẫm màu: Không quá 1,0 %

Các bộ phận khác của cây: Không quá 2,0 % .

Định lượng

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 0,2 g rutin chuẩn đã sấy khô (trong chân không) tới khối lượng không đổi, cho vào một bình định mức 100 ml. Hòa tan trong 70 ml *methanol* (TT) bằng cách làm ấm trên cách thủy. Để nguội, thêm *methanol* (TT) đủ 100 ml, lắc kỹ. Lấy chính xác 10 ml dung dịch này cho vào một bình định mức 100 ml khác. Thêm nước tới vạch, lắc kỹ (mỗi ml chứa 0,2 mg rutin khan).

Xây dựng đường cong chuẩn: Lấy chính xác 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; 5,0 ml; và 6,0 ml dung dịch chuẩn cho vào bình định mức 25 ml riêng biệt, thêm *nước* cho tới 6 ml ở mỗi bình rồi thêm 1 ml *dung dịch natri nitrit* 5 % (TT), trộn kỹ. Để yên 6 phút, thêm 1 ml *dung dịch nhôm nitrat* 10 % (TT), trộn kỹ, lại để yên 6 phút. Thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT), thêm *nước* tới vạch, trộn kỹ và để yên trong 15 phút. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 500 nm. Vẽ đường cong chuẩn, lấy độ hấp thụ là trục tung, nồng độ là trục hoành.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu thô đã sấy khô ở 60 °C trong 6 giờ cho vào bình Soxhlet. Thêm 120 ml *ether* (TT), chiết tới khi dịch chiết không màu. Để nguội và gạn bỏ ether. Thêm 90 ml *methanol* (TT) và chiết tới khi dịch chiết không còn màu. Chuyển dịch chiết vào một bình định mức 100 ml, rửa bình chiết bằng những lượng nhỏ methanol rồi cho tiếp vào bình định mức. Thêm methanol cho tới vạch và lắc kỹ. Lấy chính xác 10 ml dung dịch trên cho vào bình định mức 100 ml, thêm *nước* tới vạch và trộn kỹ. Lấy chính xác 3 ml cho vào bình định mức 25 ml, thêm 3 ml *nước* rồi thêm 1 ml *dung dịch natri nitrit* 5 % (TT), trộn kỹ. Để yên 6 phút, thêm 1 ml *dung dịch nhôm nitrat* 10 % (TT), trộn kỹ, để yên 6 phút. Thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT), thêm *nước* tới vạch, trộn kỹ và để yên trong 15 phút. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 500 nm (Phụ lục 4.1). Tính khối lượng rutin (μ g) của dung dịch thử từ nồng độ đọc được trên đường cong chuẩn và tính hàm lượng phần trăm rutin trong dược liệu.

Hàm lượng rutin trong nụ hoa Hòe không ít hơn 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Khi trời khô ráo (thường vào buổi sáng), ngắt các chùm hoa chưa nở, tuốt lấy nụ, loại bỏ các bộ phận khác của cây, phơi nắng hoặc sấy nhẹ cho đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, qui kinh

Khô, hơi hàn. Vào các kinh can, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Lương huyết chỉ huyết, thanh can tả hỏa. Chủ trị: Các chứng chảy máu, chảy máu cam, ho ra máu, băng huyết, đại tiểu tiện ra máu, đau đầu, chóng mặt, mắt đỏ, dễ cáu gắt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

HỒNG HOA (Hoa)***Flos Carthami tinctorii***

Hoa đã phơi khô của cây Hồng hoa (*Carthamus tinctorius* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Hoa dài 1 cm đến 2 cm, mặt ngoài màu vàng đỏ hay đỏ. Tràng hoa hình ống thon, phía trên xẻ làm 5 cánh hẹp, dài 0,5 cm đến 0,8 cm, hoa có 5 nhị. Bao phấn dính liền thành ống, màu vàng, núm nhụy hình trụ, hơi phân đôi, nhô ra khỏi cánh hoa. Chất mềm, mùi thơm nhẹ, vị đắng nhẹ.

Bột

Màu vàng cam, thường thấy mảnh cánh hoa, chỉ nhị, núm nhụy, những tế bào tiết hình ống dài, kèm theo các mạch, đường kính tới 66 µm, chứa chất tiết, màu từ vàng nâu đến đỏ nâu. Màng ngoài tế bào biểu bì của đầu cánh hoa nhô lên như những lông tơ. Tế bào biểu bì trên của núm nhụy và vòi nhụy biệt hóa thành những lông đơn bào hình nón nhỏ hay hơi tù ở đỉnh. Hạt phần hình cầu, đường kính 60 µm đến 70 µm, có 3 lỗ nảy mầm, vỏ ngoài hạt phần có gai. Tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Mảnh mô mềm gồm những tế bào hình chữ nhật. Mảnh đầu cánh hoa gồm nhiều tế bào kết hợp lên nhau như lợp ngói. Tế bào chỉ nhị màng mỏng, hình chữ nhật. Mảnh mạch vạch, mạch mạng.

Định tính

A. Ngâm 1 g dược liệu trong 10 ml *ethanol* 50 % (TT). Gạn dịch ngâm (phần trên) vào một cốc có mỏ, treo một băng giấy lọc và ngâm một phần vào dịch này. Sau 5 phút lấy băng giấy lọc ra, ngâm vào *nước* rồi nhấc ra ngay. Phần trên băng giấy lọc có màu vàng nhạt, phần dưới băng giấy lọc có màu đỏ nhạt.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel H*, dùng dung dịch *natri carboxymethylcellulose* 0,5 % để tráng bản mỏng.

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - acid formic - nước - methanol* (7 : 2 : 3 : 0,4).

Dung dịch thử: Ngâm 0,5 g bột dược liệu trong 5 ml *dung dịch acetone* 80 %, đậy kín, lắc đều trong 15 phút, lọc. Dịch lọc được dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Hồng hoa (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Độ hấp thụ

Sắc tố màu vàng: Làm khô dược liệu trong 24 giờ với silica gel trong bình hút ẩm, sau đó nghiền thành bột mịn. Cân chính xác 0,1 g bột dược liệu, ngâm và lắc

trong 150 ml *nước* khoảng 1 giờ, lọc dung dịch vào bình định mức dung tích 500 ml bằng phễu lọc xốp thủy tinh số 3. Rửa phễu lọc và cân bằng *nước* tới khi *nước* rửa không còn màu, thêm *nước* tới vạch và lắc kỹ. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng 401 nm. Độ hấp thụ không được dưới 0,40.

Sắc tố màu hồng: Cân chính xác khoảng 0,25 g bột mịn dược liệu, ngâm ẩm với 50 ml *dung dịch acetone* 80 % ở 50 °C trên cách thủy trong 90 phút, để nguội, lọc qua phễu lọc xốp thủy tinh số 3 vào bình định mức dung tích 100 ml. Rửa cân với 25 ml *dung dịch acetone* 80 % bằng cách chia thành nhiều lần. Chuyển *nước* rửa vào bình định mức, thêm *dung dịch acetone* 80 % tới vạch, lắc kỹ. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng 518 nm. Độ hấp thụ không được dưới 0,20.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ hoa biến màu nâu đen: Không quá 0,5 %.

Tạp chất khác: Không quá 2,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ, hái lấy hoa đang nở và cánh hoa chuyển từ vàng sang đỏ, để nơi râm mát, thoáng gió hoặc phơi nắng nhẹ cho khô dần.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh ẩm và mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào các kinh tâm, can.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết thông kinh, tán ứ huyết, giảm đau. Chủ trị: Phụ nữ vô kinh, bế kinh, đau bụng khi hành kinh, hành kinh ra huyết cục, chấn thương gây tụ huyết, sưng đau, mụn nhọt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai không nên dùng.

HÚNG CHANH (Lá)***Folium Plectranthi amboinici***

Lá tươi của cây Húng chanh [*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.], họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Lá hình bầu dục hay hình trứng rộng, đầu hơi nhọn hoặc tù, gốc hình nêm. Phiến lá dày, mọng nước, dài

6 cm đến 10 cm, rộng 4 cm đến 8 cm, mép khía tai bèo. Cả 2 mặt lá đều có lông tiết, mặt dưới nhiều hơn, cuống lá dài 2 cm đến 4 cm. Gân chính to, gân bên nhỏ, nổi rõ ở mặt dưới lá. Mùi thơm dễ chịu như mùi chanh, vị chua.

Vi phẫu

Biểu bì trên và biểu bì dưới có lông che chở đa bào gồm 3 tế bào đến 6 tế bào. Lông tiết có 2 loại: loại đầu có 2 tế bào, chân đơn bào rất ngắn và loại đầu đơn bào, chân đơn bào. Phần gân lá có mô dày sát biểu bì trên và biểu bì dưới. Tế bào mô mềm thành mỏng, to. Nhiều bó libe gỗ hình trái xoan xếp thành vòng tròn ở phần gân chính. Những bó phía trên nhỏ, những bó phía dưới to. Tất cả các bó đều quay gỗ vào phía trong. Phiến lá chỉ có một loại mô khuyết.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Benzen - ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (8 : 2).

Dung dịch thử: Cát tinh dầu từ 100 g dược liệu bằng phương pháp cất kéo bằng hơi nước. Pha một giọt tinh dầu trong 1 ml ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT).

Dung dịch đối chiếu: Cát tinh dầu từ 100 g lá Húng chanh (mẫu chuẩn) bằng phương pháp cất kéo bằng hơi nước. Pha một giọt tinh dầu trong 1 ml ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, bản mỏng được để khô ngoài không khí hay sấy nhẹ cho bay hết dung môi. Phun thuốc thử vanilin - acid sulfuric (TT), sấy bản mỏng ở 110 °C khoảng 10 phút đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ, các vết của dung dịch thử phải có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Chế biến

Thu hái quanh năm, lúc trời khô ráo hái những lá bánh tẻ, loại bỏ lá sâu và lá già, phơi âm can cho khô.

Bảo quản

Nơi khô, mát.

Tính vị, qui kinh

Tân, ôn. Vào kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị

Ôn phế trừ đàm, tân ôn giải biểu, tiêu độc. Chủ trị: Cảm cúm, ho sốt do phong hàn, nọc huyết, ho gà, khản tiếng, trùng thú cắn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 16 g, dạng thuốc sắc, thuốc xông, vắt lá tươi uống, thường dùng lá tươi.

HUYỀN SÂM (RỄ)

Radix Scrophulariae

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Huyền sâm (*Scrophularia buergeriana* Miq. hoặc *Scrophularia ningpoensis* Hemsl.), họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae).

Mô tả

Rễ củ nguyên, phần trên hơi phình to, phần dưới thuôn nhỏ dần, một số rễ hơi cong, dài 3 cm đến 15 cm. Mặt ngoài màu nâu đen, có nếp nhăn và rãnh lộn xộn, nhiều lỗ vỏ nằm ngang và nhiều vết tích của rễ con hay đoạn rễ nhỏ còn sót lại. Mặt cắt ngang màu đen, phía ngoài cùng có lớp bản mỏng, phía trong có nhiều vân tỏa ra (bó libe gỗ). Thở chất mềm, hơi dẻo, mùi đặc biệt giống như mùi đường cháy, vị hơi ngọt và hơi đắng.

Vi phẫu

Lớp bản có từ 3 đến 4 hàng tế bào nhẵn nhéo, có chỗ bị rách nứt. Mô mềm vỏ gồm những tế bào có thành mỏng. Trong mô mềm có những đám mô cứng gồm 1 tế bào đến 2 tế bào có thành dày xếp rải rác. Libe cấp 2 hình chùy cầu tạo bởi những tế bào nhỏ xếp đều đặn, bị những tia tủy rộng phân cách. Gỗ cấp 2 có những mạch gỗ xếp thẳng hàng từ trong ra ngoài, tia tủy rộng, thành không hóa gỗ, ở miền tủy có đám mạch gỗ cấp 1.

Bột

Màu nâu đen, vị hơi mặn. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều tế bào mô cứng riêng lẻ hay tụ thành đám, đa số hình thoi. Mạch gỗ hầu hết là mạch vạch. Mảnh bản gồm những tế bào nhiều cạnh đều đặn có thành dày. Mảnh mô mềm. Tinh bột nhỏ, hình tròn nằm rải rác.

Định tính

Lấy 1 g dược liệu, thêm 10 ml ethanol 96 % (TT), đun trong cách thủy trong 15 phút, để nguội và lọc. Lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:

Lấy 5 ml dịch lọc cho vào một chén sứ, cô trên cách thủy đến cạn. Thêm vào cạn 1 ml anhydrid acetic (TT) và 1 ml cloroform (TT), khuấy đều. Lọc lấy dịch cho vào một ống nghiệm khô, thêm từ từ theo thành ống nghiệm khoảng 1 ml acid sulfuric (TT). Giữa hai lớp chất lỏng có vòng màu nâu đỏ, lớp dung dịch phía trên có màu vàng nâu.

Nhỏ vài giọt dịch lọc lên một miếng giấy lọc, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm thấy bên trong của vết có màu vàng nhạt, rìa bên ngoài có màu xanh nhạt. Nhỏ tiếp lên phần bên trong của vết một giọt dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT), để khô, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 365 nm thấy có màu vàng lục sáng.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Đào lấy rễ, rửa sạch, cắt bỏ rễ con, cắt đầu chồi thừa 3 mm, tách riêng từng rễ, phân loại to nhỏ. Phơi hoặc sấy ở 50 °C đến 60 °C đến gần khô. Đem ủ 5 ngày đến 10 ngày đến khi trong ruột có màu đen hoặc nâu đen, rồi tiếp tục phơi đến khô.

Cách ủ: Dược liệu sau khi phơi gần khô đem tãi ra trong nong nia thành một lớp dày chừng 15 cm, để chỗ mát, hàng ngày đảo vài lần, có thể đập lên trên bằng một lớp rơm mỏng hay bằng một cái nong hoặc nia khác. Trong khi ủ phải đảo luôn, không để dày quá, không đập kín quá để bị hấp hơi, thối hỏng.

Khi dùng rửa sạch, ủ mềm, thái lát phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn, hàn. Vào hai kinh phế, thận.

Công năng, chủ trị

Tư âm giáng hỏa, lương huyết giải độc. Chủ trị: Sốt cao, sốt nóng về chiều, viêm họng, phát ban, mụn nhọt, mẩn ngứa, táo bón.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Tỳ vị hư hàn, tiêu hóa rối loạn không dùng.

Không dùng chung với Lê lô.

HUYẾT GIÁC (Lõi gỗ)***Lignum Dracaenae cambodiana***

Là lõi gỗ phần gốc thân đã phơi hay sấy khô của cây Huyết giác (*Dracaena cambodiana* Pierre ex Gagnep.), họ Huyết giác (Dracaenaceae).

Mô tả

Lõi gỗ hình trụ rỗng ở giữa hoặc đôi khi là những mảnh gỗ có hình dạng và kích thước khác nhau, màu đỏ nâu. Chất cứng chắc không mùi, vị hơi chát.

Định tính

A. Cho 1 g dược liệu vào bình nón, lắc với 10 ml *ethanol* 96 % (TT) trong 10 phút ở bể lắc siêu âm, lọc, được dịch chiết A. Lấy 1 ml dịch chiết A, pha loãng thành 5 ml bằng *ethanol* 96 % (TT) và chia vào 2 ống nghiệm:

Ống 1: Kiểm hóa với *dung dịch kali hydroxyd* 10 % (TT), màu đỏ đậm lên.

Ống 2: Acid hóa với *dung dịch acid hydrocloric* 10 % (TT), màu đỏ chuyển sang cam.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Benzen - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Dịch chiết A.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1 g bột Huyết giác (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

*Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric* 10 % trong *ethanol* (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi xuất hiện vết. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết (5 vết màu vàng cam) có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.*

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Vụn đen: Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp ngâm lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *methanol* (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hái quanh năm, lấy gỗ của những cây huyết giác già, lâu năm đã chết, lõi gỗ đã chuyển màu đỏ nâu, bỏ phần vỏ ngoài, gỗ mục và giác trắng thái lát và phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Khô, sáp, bình. Quy vào các kinh tâm và can.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết chỉ thống, tán ú sinh tân, chỉ huyết sinh cơ.

Chủ trị: Dùng uống: Chấn thương máu tụ sưng đau, sau đẻ huyết ứ ứ trệ, bế kinh.

Dùng ngoài: Vết thương chảy máu, vết thương mụn nhọt lâu lành không liền miệng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, phối ngũ trong các bài thuốc hoặc ngâm rượu xoa bóp hoặc uống.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai không nên dùng.

HƯƠNG GIA BÌ (Vỏ rễ)***Cortex Periplocae***

Vỏ rễ đã chế biến phơi khô của cây Hương gia bì (*Periploca sepium* Bge.), họ Thiên lý (Asclepiadaceae).

Mô tả

Mảnh vỏ dày từ 0,5 mm đến 3 mm có hình ống hoặc hình máng, dài 3 cm đến 17 cm hoặc có thể dài hơn,

thường cuộn tròn thành ống. Mặt ngoài màu vàng nâu, xù xì, có các đường vân nứt dọc, không đều, dễ bong. Nhẹ, giòn, dễ gãy, mùi thơm hắc đặc biệt.

Vi phẫu

Lớp bản gồm nhiều hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn thành hàng đồng tâm và dãy xuyên tâm. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng, hình đa giác xếp lộn xộn, rải rác mang tinh thể calci oxalat hình khối. Bó libe cấp 2 chiếm khoảng 2/3 vi phẫu. Những tia ruột gồm 2 đến 3 dãy tế bào. Rải rác trong mô mềm, libe có những túi chứa chất thơm.

Bột

Bột màu nâu, mùi thơm, vị đắng. Soi dưới kính hiển vi thấy: Nhiều mảnh bản màu nâu sẫm, các mảnh mô mềm mang tinh bột, tinh thể calci oxalat hình khối chữ nhật, kích thước 30 µm đến 40 µm. Hạt tinh bột chủ yếu là hạt đơn nhỏ, hình gần tròn hoặc nhiều cạnh. Thể cứng hình đa giác có thành dày đứng riêng lẻ hay tập trung thành đám. Mảnh mạch thường là mạch điểm.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluene- ethyl acetate- methanol (9 : 2 : 0.5).

Dung dịch thử: Lắc 1,0 g bột dược liệu với 5 ml *methanol* (TT) trong 3 phút, lọc. Dung dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Hương gia bì (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun thuốc thử *vanilin* 1 % trong *acid sulfuric* (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 3 phút đến 5 phút. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu lấy vỏ rễ, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô mát, trong bao bì kín.

Tính vị, qui kinh

Tân, ôn, có độc. Vào kinh can, thận.

Công năng chủ trị

Khử phong chỉ thống, kiện tỳ cố thận, lợi niệu, chỉ thống giải độc. Chủ trị: Đau lưng gối, đau gân khớp,

tiểu tiện khó khăn, mụn nhọt, sang lở, sang chấn gãy xương.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng sắc hoặc ngâm rượu.

HƯƠNG NHU

Herba Ocimi

Ế trắng, Ế tía

Đoạn đầu cành có hoặc không có hoa được phơi trong bóng râm hoặc sấy nhẹ cho đến khô của cây Hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum* L.) và cây Hương nhu tía (*Ocimum tenuiflorum* L.), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Hương nhu trắng: Đoạn đầu thân và cành có thiết diện vuông, mặt ngoài màu xanh nhạt hay hơi trắng, có nhiều lông. Lá mọc đối chéo chữ thập, cuống dài 3 cm đến 7 cm. Phiến lá hình trứng nhọn, mép có răng cưa, mặt trên màu xanh lục, mặt dưới màu nhạt hơn, phủ lông mịn, dài 8 cm đến 14 cm, rộng 3 cm đến 6 cm. Hoa là xim co ở đầu cành, mỗi mẫu có 6 hoa. Quả bé, với bốn phân quả đựng trong đài tồn tại. Toàn cây có mùi thơm đặc trưng, vị hơi cay, tê.

Hương nhu tía: Đoạn đầu thân và cành có thiết diện vuông, mặt ngoài màu nâu tím, có nhiều lông. Lá mọc đối chéo chữ thập, cuống dài 1 cm đến 2 cm. Phiến lá hình trứng, đầu thuôn nhọn, dài 2 cm đến 4 cm, rộng 1,5 cm đến 3,5 cm, mép có răng cưa, màu xanh lục ở mặt trên, tím đậm hoặc phớt tím ở mặt dưới, có lông. Hoa là xim co ở đầu cành, xếp thành từng vòng 6 đến 8 hoa. Dược liệu khô thường có một số lá và hoa đã rụng, để lại cuống ở trên cành. Quả bé, với bốn phân quả đựng trong đài tồn tại. Quả khô, ngâm vào nước sẽ trương nở một lớp chất nhầy màu trắng bao bọc chung quanh. Toàn cây có mùi thơm đặc trưng, vị hơi cay, tê.

Vi phẫu

Hương nhu trắng: Lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới có mang lông che chở đa bào gồm 2 tế bào đến 10 tế bào xếp thành dãy dài. Tế bào của lông có thành khá dày, chỗ chân lông dính vào biểu bì không có các u lồi do các tế bào nhô cao (khác với hương nhu tía). Lông tiết có chân gồm 1 tế bào đến 2 tế bào ngắn, đầu thường có 2 tế bào đến 4 tế bào chứa tinh dầu màu vàng. Ở vùng gân chính có mô dày nằm sát biểu bì trên và biểu bì dưới. Cung libe-gỗ thường chia làm hai, phần trên có nhiều bó libe-gỗ nhỏ xếp thành hàng đối diện với hai cung libe-gỗ to. Cung mô dày dính kèm theo phía dưới của cung libe. Phần phiến lá có một lớp mô giậu ở sát biểu bì trên, kể đến là mô khuyết.

Hương nhu tía: Lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới có mang lông che chở đa bào gồm 2 tế bào đến 10 tế bào xếp thành dãy dài. Tế bào của lông có thành khá dày, chỗ chân lông dính vào biểu bì các tế bào nhô cao tạo thành u lồi. Lông tiết có chân gồm 1 tế bào đến 2 tế bào ngắn, đầu thường có 2 tế bào đến 4 tế bào chứa tinh dầu màu vàng. Ở vùng gân chính có mô dày nằm sát biểu bì trên và biểu bì dưới. Cung libe-gỗ thường chia làm hai, phần trên có hai bó libe-gỗ nhỏ quay xuống đối diện với hai cung libe-gỗ to. Cung mô dày dính kèm theo phía dưới của cung libe. Phần phiến lá có một lớp mô giậu ở sát biểu bì trên, kế đến là mô khuyết.

Bột

Bột màu xanh nâu, mùi thơm, vị hơi cay. Dưới kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào có nhiều đoạn thất, bề mặt lấm tấm. Lông tiết chân 1 tế bào đến 2 tế bào ngắn, đầu có 2 tế bào đến 4 tế bào chứa tinh dầu màu vàng. Mảnh biểu bì lá có lỗ khí (kiểu trục bào). Mảnh mạch vạch, mạch xoắn, mạch mạng, mạch chấm. Hạt phấn hoa hình cầu đường kính 35 μm đến 39 μm , có 6 rãnh, bề mặt có dạng mạng lưới. Mảnh biểu bì cánh hoa có màng ngoằn ngoèo, mang nhiều lông tiết. Sợi đứng riêng lẻ hay chụm thành từng đám. Tế bào mô cứng thành dày và có ống trao đổi rõ.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat* (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy tinh dầu đã thu được ở phần định lượng, pha loãng trong *xylene (TT)* theo tỷ lệ khoảng 1 : 1.

Dung dịch đối chiếu: Tinh dầu hương nhu pha loãng trong *xylene (TT)* theo tỷ lệ 1 : 1 hoặc eugenol (5 giọt) trong 1 ml *xylene (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 20 μl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, phun lên bản mỏng **dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)**, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 phút.

Dung dịch thử phải xuất hiện ít nhất 3 vết có giá trị R_f khoảng 0,7 (màu xanh tím); 0,35 (vết eugenol, có màu vàng cam); 0,2 (màu tím). Trong đó, vết có R_f khoảng 0,3 đến 0,4 là vết eugenol to nhất và đậm nhất, dung dịch thử phải có vết này và phải có cùng màu sắc, giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Có thể phun **dung dịch sắt (III) clorid 1 % trong ethanol (TT)** lên bản mỏng khác sau khi khai triển ở hệ dung môi trên để phát hiện riêng vết eugenol có màu vàng nâu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ.

Tro toàn phần

Không quá 16,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).

Cho 40 g dược liệu khô đã cắt nhỏ vào bình cầu dung tích 500 ml của bộ dụng cụ định lượng tinh dầu trong dược liệu, thêm 300 ml *nước*, 0,5 ml *xylene (TT)* vào ống hứng tinh dầu có khắc vạch, tiến hành cất trong 4 giờ với tốc độ 2,5 ml/min đến 3,5 ml/min.

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,5 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái khi cây ra hoa, rửa sạch, để nguyên hoặc cắt thành từng đoạn 2 cm đến 3 cm, phơi âm can đến khô. Trước khi dùng có thể vi sao ở nhiệt độ thấp hơn 60 °C. Có thể cất lấy tinh dầu để dùng. Nếu cất tinh dầu, thu hái vào lúc cây Hương nhu đã phát triển đầy đủ, có nhiều lá và hoa.

Bảo quản

Dược liệu để nơi khô mát, tránh làm mất tinh dầu.

Tinh dầu: Tránh ánh sáng, đựng đầy lọ, nút kín, để nơi mát.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào hai kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị

Phát hãn, thanh thử, tán thấp hành thủy. Chủ trị: Cảm nắng, cảm hàn, sốt nóng sợ rét, nhức đầu, đau bụng đi ngoài, thổ tả chuột rút, dương thủy (phù thũng cấp do ngoại tà và thủy thấp gây nên).

Tinh dầu Hương nhu trắng: Tinh dầu lỏng, màu vàng nhạt, mùi thơm, vị cay, tê, để ngoài không khí biến màu nâu đen. Có tác dụng giảm đau tại chỗ, sát trùng, dùng làm thuốc phòng chữa thổi rửa, thuốc chữa đau răng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g dược liệu khô, dạng thuốc sắc hay thuốc hãm.

HƯƠNG PHỤ (Thân rễ)

Rhizoma Cyperi

Củ gấu, Củ gấu biển, Củ gấu vườn

Thân rễ đã loại bỏ rễ con và lông, phơi hay sấy khô của cây Hương phụ vườn (*Cyperus rotundus* L.), hoặc cây Hương phụ biển (*Cyperus stoloniferus* Retz.), họ Cói (Cyperaceae).

Mô tả

Hương phụ vườn: Thân rễ (thường gọi là củ) hình thoi, thể chất chắc, dài 1 cm đến 3 cm, đường kính 0,4 cm đến 1 cm. Mặt ngoài màu xám đen, có nhiều nếp nhăn dọc và đốt ngang (mỗi đốt cách nhau 0,1 cm đến 0,6 cm); trên mỗi đốt có lông cứng mọc thẳng góc với củ, màu xám đen và có nhiều vết tích của rễ con. Vết cắt ngang có sợi, mặt nhẵn bóng, phần vỏ có màu xám nhạt, trụ giữa màu nâu sẫm. Mùi thơm, vị hơi đắng ngọt, sau đó có vị cay.

Hương phụ biển: Thân rễ hình thoi, thể chất chắc, kích thước củ không đều nhau, kích thước trung bình 1 cm đến 5 cm, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm, mặt ngoài có màu nâu hay nâu sẫm; có nhiều nếp nhăn dọc và đốt ngang củ (mỗi đốt cách nhau 0,1 cm đến 0,6 cm); trên mỗi đốt có lông cứng mọc nghiêng theo chiều dọc, về phía đầu củ, màu nâu hay nâu sẫm và có nhiều vết tích của rễ con. Vết cắt ngang có sợi, mặt nhẵn bóng, phần vỏ màu hồng nhạt, trụ giữa màu nâu sẫm. Mùi thơm, vị hơi đắng ngọt, sau đó có vị cay.

Vi phẫu

Vi phẫu Hương phụ vườn và Hương phụ biển giống nhau. Biểu bì gồm một hàng tế bào hình trái xoan, to nhỏ không đều. Hạ bì gồm 2 đến 3 hàng tế bào thành dày hình vuông hay chữ nhật, rải rác có các đám sợi hóa gỗ. Mô mềm vỏ khoảng hai mươi đến ba mươi hàng tế bào thành mỏng, hình hơi tròn hay trái xoan, xếp lộn xộn, trong đó có nhiều hạt tinh bột và tế bào tiết hình tròn hoặc teo lại thành nhiều cạnh. Trong mô mềm vỏ còn có các đám libe-gỗ, mỗi đám gồm mạch gỗ bao quanh libe. Nội bì gồm một vòng tế bào hình vuông nhỏ, thành hơi dày. Trụ bì gồm một hàng tế bào hình chữ nhật, thành mỏng, xếp sát nội bì. Mô mềm ruột gồm những tế bào hình tròn to, thành mỏng, trong đó có chứa tinh bột và các đám libe-gỗ.

Bột

Bột của Hương phụ vườn màu hồng nhạt và của Hương phụ biển màu trắng xám. Soi dưới kính hiển vi thấy: Tế bào mô cứng hình chữ nhật hay nhiều cạnh, màu vàng nhạt, thành dày, có ống trao đổi rõ. Tế bào tiết hình tròn hay bầu dục, trong đó có chất tiết màu vàng, xung quanh có 5 tế bào đến 8 tế bào xếp tỏa ra rất đặc biệt. Hạt tinh bột hình tròn hay bầu dục, rộng 4 µm đến 25 µm, rón và vân không rõ. Tế bào nội bì màu vàng, hình chữ nhật, thành dày. Mạch mạch vạch, mạch mạng.

Định tính

Lấy 10 g bột dược liệu, làm ẩm bằng 20 ml *amoniac đậm đặc* (TT), chiết bằng 60 ml *cloroform* (TT). Gạn lấy lớp cloroform, bốc hơi cách thủy tới cạn. Hòa cần bằng 15 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 %* (TT). Lọc, lấy dịch lọc chia đều vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm 1 giọt đến 2 giọt *thuốc thử Mayer* (TT) sẽ thấy xuất hiện tủa trắng đục.

Ống 2: Thêm 1 giọt đến 2 giọt *thuốc thử Bouchardat* (TT) sẽ xuất hiện tủa nâu.

Ống 3: Thêm 1 giọt đến 2 giọt *thuốc thử Dragendorff* (TT) cho tủa vàng cam.

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp "Định lượng tinh dầu trong dược liệu" (Phụ lục 12.7). Dùng 100 g dược liệu thô, thêm 400 ml *nước*, cất tinh dầu trong 4 giờ. Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu không ít hơn 0,35 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 0,4 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ dược liệu còn lông và phần gốc thân còn gắn vào củ (dài quá 0,5 cm đến 1 cm): Không quá 8,0 %.

Tỷ lệ dược liệu cháy đen: Không quá 1,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, lấy dược liệu về, phơi khô, đốt cháy hết thân lá, lông và rễ con, sau đó rửa sạch phơi khô hoặc luộc hay đồ kỹ rồi phơi khô.

Bào chế

Hương phụ loại bỏ lông và tạp chất, nghiền vụn hoặc thái lát mỏng.

Thổ Hương phụ (chế dấm): Lấy lát Hương phụ hoặc mảnh vụn Hương phụ, đổ dấm vào khuấy đảo cho ướt đều, ủ một đêm đợi cho hút hết dấm, cho vào chảo sao lửa nhỏ đến khô thơm màu hơi vàng, lấy ra, phơi khô. Cứ 10 kg Hương phụ dùng 2 lít dấm.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Vị hơi cay, hơi đắng, tính bình. Quy kinh can, tỳ, tam tiêu.

Công năng, chủ trị

Hành khí chỉ thống, giải uất điều kinh, kiện vị tiêu thực. Chủ trị: Giảm đau trong các trường hợp: Đau dạ dày, tiêu hóa kém, đau cơ, đau ngực sườn, đau dây thần kinh ngoại biên, đau đầu, đau bụng kinh, rối loạn kinh nguyệt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Âm hư huyết nhiệt không nên dùng.

HY THIÊM*Herba Siegesbeckiae***Cỏ di**

Bộ phận trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Hy thiêm (*Siegesbeckia orientalis* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Thân rồng ở giữa, đường kính 0,2 cm đến 0,5 cm. Mặt ngoài thân màu nâu sẫm đến nâu nhạt, có nhiều rãnh dọc song song và nhiều lông ngắn sát nhau. Lá mọc đối, có phiến hình mác rộng, mép khía răng cưa tù, có ba gân chính. Mặt trên lá màu lục sẫm, mặt dưới màu lục nhạt, hai mặt đều có lông. Cụm hoa hình đầu nhỏ, gồm hoa màu vàng hình ống ở giữa, 5 hoa hình lưỡi nhỏ ở phía ngoài. Lá bắc có lông dính.

Vi phẫu

Gân lá: Gân phía trên và dưới đều lồi, mặt dưới lồi to hơn. Biểu bì trên và dưới gồm một hàng tế bào hình trứng nhỏ, xếp liên tục đều đặn, mang lông che chở đa bào, dài, thường có 6 đến 8 tế bào xếp thẳng hàng, vách ngăn giữa các tế bào phình to đặc biệt, các tế bào càng gần đầu lông càng dài và nhỏ dần. Dưới biểu bì là mô dày, cấu tạo bởi các tế bào hình tròn nhỏ, có thành dày ở góc, xếp đều đặn thành 2 đến 3 hàng. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn, thành mỏng, kích thước không đều nhau. Trong mô mềm rải rác có những ống tiết gồm 4 tế bào đến 5 tế bào nhỏ xếp thành vòng. Ở giữa gân lá có một bó libe-gỗ to, hình trứng, có lớp libe hình cung bao phía dưới bó gỗ, bó gỗ cấu tạo bởi các mạch gỗ tương đối nhỏ xếp thành hàng, tập trung thành đám. Trong gân lá có thể thấy 3 đến 5 bó libe-gỗ nhỏ hơn, xếp thành hình cung, có cấu tạo tương tự bó libe-gỗ to.

Phiến lá: Biểu bì trên và dưới cấu tạo bởi 1 hàng tế bào hình chữ nhật nhỏ, tế bào biểu bì trên có kích thước lớn hơn, có thể mang lông che chở đa bào cấu tạo tương tự như phần gân lá. Mô giậu là 2 hàng tế bào hình chữ nhật to, xếp sát nhau và thẳng góc với biểu bì trên. Mô khuyết là những tế bào thành mỏng, có kích thước không đều nhau. Giữa phiến lá có một số bó libe-gỗ hình trứng nhỏ của gân phụ.

Thân: Biểu bì gồm một hàng tế bào nhỏ, hình trứng, xếp đều đặn liên tục, có thể mang lông che chở đa bào cấu tạo tương tự như ở gân lá. Mô dày gồm 2 đến 3 hàng tế bào, có thành dày phát triển ở góc. Mô mềm vỏ gồm các tế bào hình tròn, thành mỏng kích thước không đều nhau. Trong mô mềm vỏ, sát với bó libe-gỗ hơn có những bó sợi lớn, xếp thành vòng liên tục hoặc gián đoạn, bao lấy bó libe-gỗ. Ứng với mỗi bó sợi là một bó libe-gỗ hình trứng, tương đối to cũng xếp thành vòng liên tục. Trong bó libe-gỗ có libe hình bán nguyệt được bó sợi bao gần hết. Gỗ cấu tạo bởi các mạch gỗ to, xếp thành hàng, tập trung tạo thành bó. Trong cùng là mô mềm ruột gồm các tế bào to, hình tròn, thành mỏng, rải rác thấy một số ống tiết cấu tạo tương tự phần gân lá.

Bột

Màu lục xám. Soi kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào, dài, thường có 6 tế bào đến 8 tế bào xếp thành hàng, vách ngăn giữa các tế bào phình to đặc biệt, các tế bào càng gần đầu lông càng dài và nhỏ dần. Hai loại lông tiết: loại đầu hình cầu đa bào, chân đơn bào và loại đầu hình cầu đơn bào, chân đa bào. Mảnh biểu bì mang lỗ khí. Mảnh mô mềm thân (tế bào hình chữ nhật), và mô mềm lá (tế bào trong). Sợi đứng riêng lẻ hoặc tập trung thành bó, tế bào sợi ngắn và nhỏ, khoang rộng. Hạt phấn hoa hình cầu gai tương đối to, gai thưa và nhọn, bề mặt có 3 lỗ rãnh, đường kính khoảng 33 μ m đến 35 μ m, màu vàng nhạt. Mảnh cánh hoa gồm tế bào màu vàng nhạt, thành mỏng. Mảnh mạch vạch, mạch mạng.

Định tính

A. Lấy 3 g dược liệu đã tán nhỏ. Thêm 2 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, trộn cho thấm đều. Thêm 20 ml *cloroform (TT)*. Lắc, để yên 4 giờ. Lọc vào bình gạn. Thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Lắc kỹ rồi để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp. Gạn lấy lớp dung dịch acid ở phía trên cho vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

Ống nghiệm 1: Thêm 1 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, cho tua trắng.

Ống nghiệm 2: Thêm 1 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, cho tua nâu.

Ống nghiệm 3: Thêm 1 giọt *dung dịch acid picric 1 % (TT)*, cho tua vàng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi triển khai: *Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic (15 : 2 : 2 : 1)*.

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 30 ml *ethyl acetat (TT)*, lắc siêu âm 30 phút, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa lẫn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)* được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Hy thiêm (mẫu chuẩn) đã nghiền nhỏ, tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 120 °C đến khi hiện rõ các vết.

Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 100 °C, 4 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tỷ lệ lá trong dược liệu: Không ít hơn 40,0 %.

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến

Khi trời khô ráo, cắt lấy cây có nhiều lá hoặc mới ra hoa, cắt bỏ gốc và rễ, phơi hoặc sấy đến khô ở 50 °C đến 60 °C.

Bảo quản

Đề nơi khô, mát.

Tính vị, qui kinh

Khô, hàn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Trừ phong thấp, thanh nhiệt, giải độc. Chủ trị: Đau lưng, gối, xương khớp, chân tay tê buốt, mụn nhọt.

Cánh dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

ÍCH MẪU***Herba Leonuri japonici***

Phần trên mặt đất đã được cắt thành từng đoạn phơi hay sấy khô của cây Ích mẫu (*Leonurus japonicus* Houtt.), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Dược liệu là những đoạn thân, có hoặc không có lá, dài từ 5 cm đến 7 cm, thiết diện vuông, bốn mặt lõm, thẳng, mặt ngoài có nhiều rãnh dọc, lông bao phủ ngắn. Thân có màu xanh hoặc màu ngà, chỗ rãnh, màu nhạt hơn. Trên các đoạn thân đó, phần lớn, có lá mọc đối, có cuống lá, ở phần phía trên, cuống ngắn hơn. Lá mọc đối, phiến lá xẻ sâu thành 3 thùy, mỗi thùy lại chia 3 phần không đều, thùy mép nguyên hoặc hơi xẻ răng cưa. Cụm hoa mọc ở kẽ lá thành vòng dày đặc, càng lên phía ngọn cụm hoa càng dày đặc. Tràng hoa màu hồng tím. Khi khô, chun sít lại. Quả nhỏ có 3 cạnh, nhẵn, màu xám nâu.

Vi phẫu

Thân: Mặt cắt ngang hình gần vuông, lồi ở 4 góc. Từ ngoài vào trong có: Biểu bì, gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp đều đặn, mang lông che chở đa bào và lông tiết, lông che chở nhiều ở 4 góc lồi. Mô dày gồm 6 đến 10 hàng tế bào thành dày rất phát triển ở 4 góc lồi. Mô mềm vỏ, có từ 3 đến 4 hàng tế bào nhỏ, có thành mỏng. Trong mô mềm vỏ sát libe có sợi xếp thành từng đám nhỏ. Gỗ có các mạch gỗ to xếp thành hàng rải rác trong mô gỗ. Libe gồm những tế bào nhỏ, xếp liên tục thành vòng bao quanh gỗ. Tầng phát sinh nằm giữa libe và gỗ, gồm những tế bào hình chữ nhật, hoặc vuông, có thành mỏng, xếp thành vòng. Mô mềm ruột gồm những tế bào kích thước lớn, thành mỏng, căng vào giữa tế bào càng lớn hơn.

Gân giữa lá: Biểu bì trên hoặc dưới, gồm một hàng tế bào hình chữ nhật, xếp đều đặn, mang lông che chở đa bào và lông tiết. Mô dày xếp sát biểu bì trên và biểu bì dưới, gồm những tế bào, có thành dày. Mô dày trên, gồm 2 đến 3 hàng tế bào. Mô dày dưới, tạo thành hình vòng cung, chỗ dày nhất gồm 2 đến 3 hàng tế bào. Mô mềm gồm những tế bào tròn, thành mỏng. Ba bó libe xếp giữa gân lá thành hình vòng cung. Mỗi bó gồm một cung mô cứng, bao bọc bên ngoài, giữa là libe. Trong cùng là gỗ, mạch gỗ xếp thành dãy.

Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm 1 hàng tế bào hình chữ nhật. Tế bào biểu bì trên, có kích thước tương đối lớn, tế bào biểu bì dưới, nhỏ và dẹt hơn. Cả 2 mặt phiến lá đều mang lông che chở, lông tiết, biểu bì dưới có lỗ khí. Nhu mô giậu, gồm các hàng tế bào xếp lộn xộn để hở khuyết.

Bột

Bột có màu lục xám. Soi dưới kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào, mảnh mạch, hạt phấn hoa hình cầu, đường kính 20 µm đến 22 µm, 3 rãnh, bề mặt có chấm mờ, lông tiết, đám sợi có thành dày. Mảnh biểu bì mang lông che chở, lông tiết, lỗ khí. Mảnh lá có mạch gỗ xoắn.

Định tính

A. Lấy khoảng 5 g bột dược liệu, loại tạp bằng ether dầu hòa (30 °C đến 60 °C)(TT), trong dụng cụ Soxhlet. Lấy bã dược liệu cho bay hết ether dầu hòa, thẩm ẩm bằng 5 ml đến 7 ml amoniac đậm đặc (TT). Thêm 50 ml ether (TT), ngâm trong 2 giờ. Lọc, lấy 10 ml dịch lọc để làm dung dịch thử trong mục định tính bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng; phần còn lại tiến hành cất thu hồi dung môi ether đến cạn, thêm vào cạn 5 ml đến 7 ml dung dịch acid sulfuric 10 % (TT), lắc kỹ. Lấy phần dịch acid chia vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Nhỏ 1 giọt thuốc thử Mayer (TT), xuất hiện tua trắng.

Ống 2: Nhỏ 2 giọt thuốc thử Dragendorff (TT), xuất hiện tua vàng cam.

Ống 3: Nhỏ 1 giọt thuốc thử Bouchardat (TT), xuất hiện tua nâu.

D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel 60 GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - ether ethylic (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 ml dịch chiết ether ethylic trên, bay hơi ether trên cách thủy đến còn khoảng 0,5 ml đến 1 ml.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Ích mẫu (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun thuốc thử Dragendorff (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.5).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Đoạn ngọn cành dài quá 40 cm: Không quá 5,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tỷ lệ lá trên toàn bộ dược liệu: Không ít hơn 55,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 2,4 % (Phụ lục 9.7).

Định lượng

Tiến hành định lượng alkaloid toàn phần, đối với dược liệu là bộ phận trên mặt đất. Cân chính xác 50 g bột thô dược liệu. Ngâm kiệt bằng *ethanol* (TT) đã acid hóa bằng *dung dịch acid sulfuric 10 %* (TT), ngâm trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Rút dịch chiết với tốc độ 15 giọt/phút, đến khi hết alkaloid [kiểm tra bằng các phản ứng với *thuốc thử Dragendorff* (TT)]. Gộp các dịch chiết và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm đến còn khoảng 5 ml. Thêm *ether dầu hòa* (30 °C đến 60 °C) (TT) để loại tạp (3 lần × 5 ml). Kiểm hóa dịch chiết đến pH 10 bằng *amoniac đậm đặc* (TT). Chiết alkaloid toàn phần bằng *cloroform* (TT) (3 lần × 10 ml). Gộp dịch cloroform, bay hơi trên cách thủy tới cạn, sấy cạn ở 50 °C đến khối lượng không đổi, cân và tính hàm lượng alkaloid toàn phần. Hàm lượng alkaloid toàn phần không ít hơn 0,13 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Vào mùa hè (khoảng tháng 5 đến 6), khi có tới một nửa số hoa trên cây đã nở, có thể tiến hành thu hái. Chặt lấy toàn bộ phần trên mặt đất, phơi khô hay sấy khô. Bó lại thành từng bó. Cũng có thể, sau khi phơi khô, chặt từng đoạn 5 cm đến 7 cm, rồi đóng gói vào các bao tải, để nơi thoáng mát. Trước khi dùng cần sao vàng.

Bảo quản

Đề nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh

Khô, tân, hơi hàn. Vào các kinh can, tâm bào.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết khứ ứ, lợi thủy tiêu phù. Chủ trị: Kinh đau, kinh bế, huyết hời ra không hết, phù thũng, đái không lợi.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

Kiểm kỵ

Không dùng cho người huyết hư không có huyết ứ.

ÍCH TRÍ (Quả)

Fructus Alpiniae oxyphyllae

Riềng lá nhọn

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Ích trí (*Alpinia oxyphylla* Miq.), họ Gừng (*Zingiberaceae*).

Mô tả

Quả hình bầu dục, hai đầu hơi nhọn, dài 1,2 cm đến 2 cm, đường kính 1 cm đến 1,3 cm. Vỏ quả mỏng màu nâu hoặc nâu xám, có 13 đến 20 đường gờ nhỏ, trên bề mặt lồi lõm không đều, ở đỉnh có vết bao hoa, gốc có vết cuống quả. Hạt dính thành khối 3 múi có màng mỏng ngăn cách, mỗi múi có 6 đến 11 hạt.

Hạt hình cầu dẹt hoặc nhiều cạnh, không đều, đường kính khoảng 3 mm, màu nâu sáng hoặc vàng sáng, áo hạt mỏng, màu nâu nhạt, chất cứng, nội nhũ màu trắng. Mùi thơm, vị cay, hơi đắng.

Vĩ phẫu

Mặt cắt ngang hạt: Tế bào mô mềm của áo hạt đôi khi còn sót lại. Tế bào vỏ hạt có hình gần tròn, gần vuông hoặc hình chữ nhật, hơi xếp theo hướng xuyên tâm, thành tương đối dày. Hạ bì gồm một hàng tế bào mô mềm, có chứa chất màu vàng nâu. Một hàng các tế bào chứa dầu hình gần vuông hoặc hình chữ nhật có chứa các giọt dầu màu vàng. Lớp sắc tố gồm những hàng tế bào chứa chất màu vàng nâu, rải rác có 1 đến 3 hàng các tế bào chứa dầu, tương đối lớn, hình gần tròn có chứa các giọt dầu màu vàng. Vỏ lụa gồm một hàng tế bào mô cứng xếp đều đặn (giống mô giậu) có chứa chất màu vàng hoặc màu đỏ nâu, thành bên và thành phía trong rất dày, khoang nhỏ có chứa hạt silic. Tế bào ngoại nhũ chứa đầy các hạt tinh bột. Tế bào nội nhũ chứa hạt aleuron và các giọt dầu.

Bột

Màu vàng nâu. Tế bào vỏ hạt dài khi nhìn trên bề mặt, đường kính tới 29 µm, thành hơi dày, thường xếp thẳng đứng với hạ bì. Các tế bào của lớp sắc tố nhăn nheo và giới hạn không rõ, chứa chất màu nâu đỏ hay nâu sẫm, thường bị vỡ vụn tạo thành các mảng sắc tố không đều. Tế bào chứa dầu hình gần vuông hay hình chữ nhật phân tán ở giữa các tế bào của lớp sắc tố. Tế bào mô cứng của vỏ lụa màu nâu hoặc vàng nâu, hình đa giác khi nhìn trên bề mặt, thành dày, không hóa gỗ, trong có chứa hạt silic khi nhìn trên bề mặt, khi nhìn ở phía trên, thấy một hàng tế bào xếp đều đặn (giống mô giậu), thành phía trong và thành bên dày hơn, khoang lệch tâm có chứa hạt silic. Các tế bào ngoại nhũ chứa đầy các hạt tinh bột tụ lại thành khối tinh bột. Các tế bào nội nhũ chứa các hạt aleuron và giọt dầu.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng tinh dầu của dược liệu (thu được ở phần định lượng) trong *ethanol* (TT) để thu được dung dịch có chứa 10 µl tinh dầu trong 1 ml.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan một lượng tinh dầu Ích trí (mẫu chuẩn) trong *ethanol* (TT) để thu được dung dịch có chứa 10 µl tinh dầu trong 1 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl đến 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, lấy tấm sắc ký ra để khô ở nhiệt độ phòng, sau quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phun lên bản mỏng *dung dịch dinitrophenylhydrazin* (TT), các vết trên sắc ký đồ chuyển dần sang màu đỏ da cam.

Độ ẩm

Không quá 11,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 2,5 % (Phụ lục 9.7).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Hàm lượng tinh dầu không dưới 1,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ, mùa thu, hái lấy quả đã chuyển từ màu xanh lục sang màu đỏ, phơi hay sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bào chế

Dùng sống: Loại bỏ tạp chất và vỏ ngoài, khi dùng giã nát.

Diêm ích trí (chế muối): Lấy cát, sao to lửa cho tơi, sau đó cho Ích trí vào, sao cho phồng vỏ, có màu vàng. Lấy ra rây sạch cát, giã bỏ vỏ, sấy sạch. Lấy nhân trộn với nước muối, ủ cho thấm đều, cho vào chảo đun nhỏ lửa, sao đều đến khô. Lấy ra để nguội, khi dùng giã nát (cứ 100 kg Ích trí nhân dùng 2 kg muối, cho nước sôi vào pha vừa đủ, lọc trong để dùng).

Bảo quản

Đề nơi khô, mát, trong bao bì kín, tránh ẩm, nóng làm bay mất tinh dầu.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào các kinh tý, thận.

Công năng, chủ trị

Ôn thận cố tinh, ôn tỳ chỉ tả. Chủ trị: Tỳ hàn gây tiết tả, đau bụng hàn, tiết nhiều nước bọt, thận hàn gây đái dâm, đi tiểu vật, đi tinh, cận hơi trắng nước tiểu do thận dương hư.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

KÉ ĐẦU NGỰA (Quả)***Fructus Xanthii strumarii*****Thương nhĩ tử**

Quả già đã phơi hoặc sấy khô của cây Ké đầu ngựa (*Xanthium strumarium* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Quả hình trứng hay hình thoi, dài 1,2 cm đến 1,7 cm, đường kính 0,5 cm đến 0,8 cm. Mặt ngoài màu xám vàng hay xám nâu, có nhiều gai hình móc câu dài 0,2 cm đến 0,3 cm, đầu dưới có sẹ của cuống quả. Vỏ quả già rất cứng và dai. Cắt ngang thấy có hai ngăn, mỗi ngăn chứa một quả thật (quen gọi là hạt). Quả thật hình thoi có lớp vỏ rất mỏng, màu xám xanh rất dễ bong khi bóc phần vỏ quả giả. Hạt hình thoi, nhọn hai đầu, vỏ hạt màu xám nhạt có nhiều nếp nhăn dọc, gồm hai lá mầm dày, bao bọc cây mầm, rễ và chồi mầm nhỏ nằm ở phía đầu nhọn của hạt.

Vì phần

Vỏ quả già (thực chất là lá bắc biến đổi): Biểu bì gồm một lớp tế bào hình chữ nhật đều đặn, phía ngoài phủ lớp cutin, có nhiều lông che chở đa bào, gai móc và lông tiết kiểu chân đa bào, đầu đa bào. Mô mềm gồm vài lớp tế bào hình nhiều cạnh thành mỏng. Mô cứng gồm 8 đến 10 hàng tế bào hình nhiều cạnh. Trong phần mô mềm có các bó libe-gỗ nhỏ.

Quả thật: Vỏ quả gồm 4 đến 5 lớp tế bào hình chữ nhật nhỏ xếp sít nhau. Vỏ hạt gồm hai hàng tế bào nhỏ tương đối đều nhau. Bên trong chứa hai lá mầm hình thuẫn nhọn.

Bột

Màu nâu nhạt hay xám lục, có mùi thơm, vị hơi béo. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì có lông che chở đa bào, lông tiết. Mảnh mạch, tế bào mô cứng, mảnh sợi của gai móc và hạt tinh bột tròn nhỏ.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Bộ phận khác của cây: Không quá 3,0 %.

Tỷ lệ quả non lép: Không quá 10,0 %.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, khi quả già chín, lúc trời khô ráo, hái lấy quả, loại bỏ tạp chất và cuống lá, phơi hoặc sấy nhẹ ở 40 °C đến 45 °C cho đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát.

Tính vị, qui kinh

Tân, khô, ôn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị

Trừ phong thấp, tiêu độc, tán phong thông khiếu. Chủ trị: Đau khớp, chân tay tê dại co rút; viêm mũi, viêm xoang; mụn nhọt, mẩn ngứa.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, hoặc hoàn.

Kiêng kỵ

Đau đầu do huyết hư không nên dùng.

KÊ HUYẾT ĐĂNG (Thân)***Caulis Spatholobi suberecti*****Huyết đăng**

Thân đã thái thành phiến phơi hay sấy khô của cây Kê huyết đăng (*Spatholobus suberectus* Dunn), họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Dược liệu hình trụ to, dài, hoặc phiến thái vát hình bầu dục không đều, dày 0,3 cm đến 0,8 cm. Bề mặt nâu hơi xám, có khi thấy vết đốm màu trắng hơi xám; chỗ mất lớp bề mặt sẽ hiện ra màu nâu hơi đỏ. Mặt cắt ngang: Gỗ màu nâu hơi đỏ hoặc màu nâu, lộ ra nhiều lỗ mạch; libe có chất nhựa cây tiết ra, màu nâu hơi đỏ đến màu nâu hơi đen, xếp xen kẽ với gỗ thành 3 đến 8 vòng, hình bán nguyệt, lệch tâm; phần tùy lệch về một bên. Chất khô cứng. Vị chát.

Vi phẫu

Mặt cắt ngang: Bề mặt gồm một số lớp tế bào chứa chất đỏ hơi nâu. Vỏ tương đối hẹp, có những nhóm tế bào đá với lỗ chứa đầy các chất đỏ hơi nâu; tế bào mô mềm chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Các bó mạch khác thường do libe xen kẽ với gỗ, xếp thành một số vòng. Phía ngoài cùng libe là một lớp tế bào mô cứng gồm những tế bào đá và những bó sợi; đa số tia bị nén lại; nhiều tế bào tiết chứa đầy chất đỏ hơi nâu, thường có từ vài tế bào đến 10 tế bào hoặc nhiều hơn, xếp lớp theo chiều tiếp tuyến. Bó sợi tương đối nhiều, không hóa gỗ hoặc hơi hóa gỗ, vây tròn xung quanh có các tế bào chứa các tinh thể calci oxalat hình lăng trụ tạo thành những sợi tinh thể; thành của tế bào chứa tinh thể hóa gỗ và dày lên; có các nhóm tế bào đá rải rác. Đôi khi tia gỗ chứa chất đỏ hơi nâu, các mạch gỗ đa số là mạch đơn, gần tròn, đường kính tới

400 μm, xếp rải rác, các bó sợi gỗ cũng thành hình các sợi tinh thể. Một số tế bào mô mềm gỗ có chứa chất màu nâu đỏ.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (30 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột thô dược liệu, thêm 100 ml ethanol 96 % (TT), đun hồi lưu 1 giờ, lọc, cô dịch lọc tới gần khô, hòa tan gần trong 2 ml methanol (TT), thêm 1 g silica gel, khuấy kỹ, đuổi hết dung môi, chuyển lên trên một cột có đường kính trong là 1,0 cm (chứa 2 g silica gel, kích thước hạt từ 75 μm đến 150 μm). Đầu tiên rửa giải bằng 30 ml ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C)(TT), sau đó rửa giải bằng 40 ml cloroform (TT), lấy dịch rửa giải cloroform bay hơi đến gần khô, hòa tan gần trong 0,5 ml cloroform (TT) dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Kê huyết đăng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 5 μl đến 10 μl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, bản mỏng được để khô ngoài không khí ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có huỳnh quang cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 0,6 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng ethanol 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Vào mùa thu, đông, chặt lấy thân leo, loại bỏ cành và lá, thái phiến, phơi khô.

Bào chế

Dược liệu dạng trụ dài, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ngâm ủ đến khi mềm, thái phiến, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, cam, ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết thông lạc, bổ huyết. Chủ trị: Chứng huyết hư gây huyết ứ trệ, bế thông kinh, chấn thương tụ huyết, phong thấp đau lưng, đau xương khớp.

Cách dùng, lượng dùng

Ngày dùng từ 10 g đến 16 g, dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài: Lượng thích hợp.

KÊ NỘI KIM

Endothelium Corneum Gigeriae Galli

Màng mê gà

Lớp màng trong đã phơi hoặc sấy khô của mê con Gà (*Gallus gallus domesticus* Brisson), họ Chim trĩ (Phasianidae).

Mô tả

Màng gần nguyên vẹn hoặc từng mảnh khô cứng, cuộn lại, dày khoảng 0,2 cm. Mặt ngoài màu vàng, lục vàng hoặc nâu vàng, màng mỏng trong mờ, có nếp nhăn dọc nhô lên. Chất giòn dễ gãy vỡ, vết gãy bóng như sừng. Mùi hơi tanh, vị hơi đắng.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 7,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 50 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Mổ gà, bóc lấy màng mê gà khi còn nóng, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Kê nội kim sao: Lấy Kê nội kim sạch, rang với cát, đến khi phồng lên, lấy ra, để nguội. Dược liệu sau khi sao có màu nâu vàng sậm tới màu vàng sém đen, trên bề mặt có những nốt phồng nhỏ, bị vỡ khi bóp nhẹ, mảnh vỡ bóng láng.

Kê nội kim chế dấm: Lấy Kê nội kim sạch, sao đến khi phồng lên, phun dấm, lấy ra phơi hoặc sấy khô. Cứ 100 kg Kê nội kim dùng 15 lít dấm.

Bảo quản

Đề nơi khô, trong bao bì kín, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, bình. Vào các kinh tỷ, vị, tiểu trường, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Kiên vị, tiêu thực, sáp tinh. Chủ trị: Thực tích không tiêu, bụng đầy trướng, nôn mửa, kiết lỵ, di tinh. Trẻ em cam tích, đái dầm.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc tán.

Kiêng kỵ

Không bị tích trệ không nên dùng.

KHA TỬ (Quả)

Fructus Terminaliae chebulae

Chiêu liên

Quả chín phơi hay sấy khô của cây Chiêu liên (*Terminalia chebula* Retz.), họ Bàng (Combretaceae).

Mô tả

Dược liệu hình quả trám hoặc hình trứng thuôn, dài 2 cm đến 4 cm, đường kính 2 cm đến 2,5 cm. Mặt ngoài màu nâu hơi vàng hoặc màu nâu thẫm, hơi sáng bóng; có 5 đến 6 cạnh dọc và vân nhăn không đều; phần đáy có vết sẹo cuống quả, hình tròn. Chất chắc, thịt quả dày 0,2 cm đến 0,4 cm, màu nâu hơi vàng, hoặc vàng nâu thẫm; hạch quả dài 1,5 cm đến 2,5 cm, đường kính 1 cm đến 1,5 cm, màu vàng nhạt, thô và cứng. Hạt hình thoi hẹp, dài khoảng 1 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,4 cm, vỏ cứng màu vàng nâu, đôi lá mầm màu trắng, chổng lên nhau và cuộn xoắn lại. Không mùi, vị chua, chát, sau ngọt.

Định tính

A. Ngâm 3 g bột dược liệu trong 30 ml nước, sau 3 giờ, lọc, được dung dịch A.

Lấy 2 ml dung dịch A, thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT), sẽ có tủa màu xanh da trời sẫm.

Lấy 2 ml dung dịch A, thêm 1 giọt *thuốc thử gelatin - natri clorid* (TT) sẽ có tủa màu trắng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi triển khai: Cloroform - ethyl acetat - acid formic (6 : 4 : 1).

Dung dịch thử : 3 g bột dược liệu (loại bỏ hạt) thêm 10 ml *ethanol* 96 % (TT), siêu âm trong 20 phút, sử dụng lớp dịch chiết ở trên làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu : Hòa tan acid galic chuẩn trong *ethanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ 0,5 mg trong 1 ml. Hoặc nếu không có acid galic thì dùng 3 g bột Kha tử (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ngoài không khí và phun *dung dịch sắt (III) clorid* 2 % trong *ethanol* (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng vị trí và màu sắc với vết của acid galic hoặc có các vết cùng màu sắc và R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu là dược liệu chuẩn.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 30,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng nước làm dung môi.

Chế biến

Thu hái lấy quả chín vào mùa thu, đông, loại bỏ tạp chất, phơi khô.

Bào chế

Kha tử đã loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi khô, khi dùng đập nát.

Thịt quả Kha tử: Lấy Kha tử sạch, ngâm qua nước, ủ mềm, bỏ hạch, phơi thịt quả đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh côn trùng gây hại (sâu, bướm, rệp).

Tính vị, quy kinh

Khô, toan, sáp, bình. Vào các kinh phế, đại trường.

Công năng, chủ trị

Sáp trường chỉ tả, liễm phế, giáng hỏa lợi hầu họng. Chủ trị: Tả lý lâu ngày, đại tiện ra máu, lở loét; hen suyễn khó thở, ho lâu ngày không khỏi; đau bụng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc hay thuốc viên.

KHIÊM THỰC (Hạt)***Semen Euryales***

Hạt của quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Khiêm thực (*Euryales ferox* Salisb.), họ Súng (Nymphaeaceae).

Mô tả

Hạt hình cầu, đường kính 5 mm đến 8 mm, phần lớn là hạt vỡ. Vỏ hạt màu đỏ nâu, một đầu màu trắng vàng, chiếm độ 1/3 hạt, có vết lõm là rốn hạt dạng điểm. Khi bỏ vỏ lụa hạt sẽ có màu trắng, chất tương đối cứng. Mặt gãy màu trắng, chất bột. Không mùi, vị nhạt.

Bột

Màu trắng ngà, vị nhạt. Soi dưới kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột hình cầu, đường kính 1 µm đến 3 µm, rốn hạt không rõ, bề mặt hạt không nhẵn. Nhiều hạt tinh bột tập trung thành khối lớn, các mảnh vỏ hạt màu nâu đỏ.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ nhân hạt biến màu: Không quá 1,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 30 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến

Thu hoạch vào cuối thu đầu đông. Thu hái quả chín, loại bỏ vỏ quả, lấy hạch cứng, rửa sạch, loại bỏ vỏ cứng, lấy hạt, phơi khô.

Bào chế

Dùng hạt khô sống hoặc sao.

Khiêm thực sao: Lấy cám rang nóng đợi lúc khói bay lên, cho Khiêm thực sạch vào, sao cho tới màu hơi vàng, lấy ra sàng bỏ cám, để nguội (10 kg Khiêm thực cần 1 kg cám).

Bảo quản

Để nơi thoáng khô, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Vị ngọt chát, tính bình. Vào các kinh tỳ, thận.

Công năng, chủ trị

Ích thận, cố tinh, kiện tỳ, trừ thấp nhiệt, chỉ tả, ngừng đới hạ. Chủ trị: Mộng tinh, di tinh, hoạt tinh, bạch trọc, đới hạ, tỳ hư, tiêu chảy lâu ngày, di niệu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ

Đại tiện táo bón, tiểu tiện bí không nên dùng.

KHOẢN ĐÔNG HOA***Flos Tussilaginis farfarae***

Cụm hoa chưa nở đã phơi hay sấy khô của cây Khoản đông (*Tussilago farfara* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Cụm hoa là một đầu hình chùy dài, thường là 2 đến 3 cụm hoa cùng mọc trên 1 cành hoặc mọc đơn độc, dài 2 cm đến 2,5 cm, phần trên rộng hơn và phần dưới thon dần. Đỉnh cuống cụm hoa có nhiều lá bắc dạng vẩy. Mặt ngoài của lá bắc đỏ tía hoặc đỏ nhạt, mặt trong được phủ kín bởi những đám lông trắng như bông. Mùi thơm, vị hơi đắng và cay.

Bột

Màu vàng hơi nâu nhạt, thô, không mịn, bết vào nhau thành từng mảng do có nhiều lông quện vào. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều mảnh biểu bì cánh hoa có tế bào hình đa giác to, trong tế bào lác đác có sắc tố màu vàng nâu nhạt. Nhiều mảnh biểu bì lá bắc có các tế bào hình đa giác và các lỗ khí; trong một số tế bào có sắc tố màu đỏ hơi nâu. Nhiều lông đơn bào xoắn, trắng bông. Hạt phấn hình cầu màu vàng, màng ngoài có gai. Bó mạch gỗ màu đỏ cam. Mảnh đầu nhụy.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu thêm 10 ml *ethanol* 96 % (TT) đun sôi, lắc kỹ, lọc lấy dịch lọc làm phản ứng.

Lấy 1 ml dịch lọc thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT), có màu xám đen và có tủa.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat (9,5 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 2 ml ether dầu hòa (40 °C đến 60 °C) (TT), ngâm và thỉnh thoảng lắc trong 1 giờ. Lọc, bốc hơi tự nhiên đến cạn. Hòa cạn trong 1 ml cloroform (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Khoản đông hoa (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

*Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, bản mỏng được để khô ngoài không khí hay sấy nhẹ cho bay hết dung môi. Soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm sau đó phun *dung dịch vanilin - acid sulfuric* (TT), sấy 105 °C cho đến khi xuất hiện vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.*

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Nụ hoa biến thành màu đen: Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Chất chiết được bằng ethanol: Không dưới 14,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi.

Chất chiết được bằng nước: Không dưới 62,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng nước làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào tháng 12 hoặc khi trời lạnh, hoa vẫn còn dưới đất, hái lấy nụ, loại bỏ cuống hoa, đất cát, phơi âm can.

Bào chế

Khoản đông hoa: Loại bỏ tạp chất và cuống hoa còn sót lại.

Khoản đông hoa chế mật: Lấy Mật ong, có thể hòa loãng bằng một lượng nước sôi, trộn đều mật với Khoản đông hoa, ủ cho thấm đều, cho vào chảo sao nhỏ lửa cho đến khi sờ không dính tay, lấy ra để nguội. Dùng 2,5 kg Mật ong cho 10 kg Khoản đông hoa.

Bảo quản

Nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Tân, cam, ôn. Quy vào kinh phế.

Công năng, chủ trị

Nhuận phế hóa đờm, chỉ khái, giáng nghịch. Chủ trị: Ho và suyễn mới và lâu ngày, hư lao.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 5 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiểm kê

Không dùng cho người âm hư phế nhiệt, phế ráo.

KHỔ HẠNH NHÂN***Semen Armeniacae amarum*****Hạnh đắng, Hạnh nhân đắng**

Hạt lấy ở quả chín phơi khô của cây Mơ (*Prunus armeniaca* L.), họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả

Hạt hình tim dẹt, dài 1 cm đến 1,9 cm, rộng 0,8 cm đến 1,5 cm, dày 0,5 cm đến 0,8 cm. Mặt ngoài màu nâu vàng đến màu nâu thẫm, một đầu hơi nhọn, một đầu tròn, 2 mặt bên không đối xứng. Ở đầu nhọn có rốn vạch ngắn nổi lên. Ở phía đầu tròn có một hợp điểm với nhiều vân màu nâu sẫm tỏa lên. Vỏ hạt mỏng, hạt có 2 lá mầm màu trắng kem, nhiều dầu béo. Không mùi, vị đắng.

Vì phẫu

Vỏ hạt có những tế bào đá hình gần tròn tập hợp thành khối, thành tế bào dày, rõ rệt và đồng nhất, đường kính 60 µm đến 90 µm. Nhìn phía trên, tế bào đá có hình tam giác tù, thành tế bào rất dày ở đỉnh.

Định tính

A. Nghiền vài hạt dược liệu với nước, ngửi thấy mùi đặc biệt của benzaldehyd.

B. Lấy 0,1 g bột dược liệu cho vào một ống nghiệm, nhỏ vào mấy giọt nước, treo một băng giấy nhỏ có tẩm acid picric bão hòa vào phía trên mặt dược liệu, nút kín ống nghiệm, ngâm ống trong cách thủy khoảng 10 phút, băng giấy thuốc thử sẽ chuyển sang màu đỏ gạch.

Giấy tẩm acid picric bão hòa: Thấm ướt giấy bằng *dung dịch acid picric bão hòa* (TT), để khô ngoài không khí. Trước khi dùng thấm ướt bằng *dung dịch natri carbonat* 10 %.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - methanol - nước (15 : 40 : 22 : 10), sau khi pha để ở 5 °C đến 10 °C trong 12 giờ.

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 50 ml ether (TT). Đun hồi lưu trên cách thủy 1 giờ, gạn dịch chiết ether, rửa phần bã bằng ether (TT). Lấy bã bay

hơi hết ether, thêm 30 ml *methanol* (TT) vào bã, đun hồi lưu trên cách thủy 30 phút, để nguội, lọc, cô dịch lọc trên cách thủy còn 1 ml.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Khổ hạnh nhân (mẫu chuẩn). Tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra phun ngay *dung dịch acid phosphomolybdic trong acid sulfuric* [lấy 2 g *acid phosphomolybdic* (TT), thêm 20 ml nước để hòa tan rồi thêm từ từ 30 ml *acid sulfuric* (TT) và trộn kỹ]. Sấy bản mỏng ở 105 °C khoảng 10 phút. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Không bị ôi.

Nghiền vài hạt được liệu với nước nóng, không được ngửi thấy mùi ôi của dầu.

Tạp chất

Không được có tạp chất và lẫn những mảnh vụn của vỏ quả trong (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 15 g bột được liệu thô, cho vào bình Kjeldahl, thêm 150 ml nước, nút kín ngay miệng bình, để yên trong 2 giờ. Tiến hành cất kéo hơi nước, hứng dịch nước cất được vào một bình hứng chứa 10 ml nước, 2 ml *dung dịch amoniac 10 %* (TT) và được làm lạnh trong nước đá. Cất hết acid hydrocyanic [Lấy 2 ml dịch cất, kiểm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 40 %* (TT), cho thêm vài giọt *dung dịch bão hòa acid picric* (TT), không xuất hiện màu đỏ là được]. Cho thêm chính xác 2 ml *dung dịch kali iodid 16,5 %* (TT) vào dịch đã cất, chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 M* (CĐ) cho đến khi tua đục màu trắng vàng xuất hiện.

1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M* (CĐ) tương đương với 91,48 mg amygdalin ($C_{20}H_{27}NO_{11}$).

Dược liệu phải chứa không ít hơn 3,0 % amygdalin ($C_{20}H_{27}NO_{11}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Quả thu hoạch vào mùa hạ, hái quả chín, loại bỏ phần thịt, đập vỡ vỏ hạch, tách lấy các hạt bên trong, phơi khô.

Bào chế

Khổ hạnh nhân sống: Loại bỏ tạp chất, giã nát khi dùng.

Đàn khổ hạnh nhân: Lấy khổ hạnh nhân sạch, xóc trong nước sôi đến khi vỏ lụa hơi nhăn bỏ ra chà sát, loại bỏ vỏ lụa, phơi hoặc sấy khô, khi dùng giã nát.

Khổ hạnh nhân sao: Lấy đàn khổ hạnh nhân, cho vào chảo, sao nhỏ lửa đến khi chuyển thành màu vàng. Giã nát khi dùng.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Khổ, tân, ôn, ít độc. Qui vào các kinh phế, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Chỉ khái bình suyễn, nhuận tràng thông tiện. Chủ trị: Ho suyễn do ngoại tà hoặc đờm ẩm, táo bón do huyết hư và thiếu tân dịch.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4,5 g đến 9 g, dạng thuốc sắc, phối ngũ trong các bài thuốc. Khi sắc các thuốc khác gần được mới cho khổ hạnh nhân vào.

Kiêng kỵ

Hư nhược mà ho không phải do tà khí thì không dùng, không dùng quá liều, kéo dài tránh methemoglobin.

KHỔ SÂM (Lá và cành)

Folium et Ramulus Crotonis tonkinensis

Lá và cành đã được phơi hoặc sấy khô của cây Khổ sâm (*Croton tonkinensis* Gagnep.) họ Thầu dầu (*Euphorbiaceae*).

Mô tả

Dược liệu là lá nguyên hay đã gãy vụn thành những mảnh dài khoảng 1 cm đến 3 cm, trộn lẫn với một số đoạn cành hay ngọn non có thể có mang hoa, quả. Mảnh vụn của lá có hai màu rõ rệt: Mặt trên lục xám có rất nhiều đốm trắng lấm tấm, mặt dưới màu trắng bạc. Đoạn thân cành có màu xám trắng, thiết diện hơi tròn hoặc có khía dọc. Lá mọc so le hay mọc chụm ở gần ngọn. Phiến hình mác, gân giữa và gân phụ hai bên nổi rõ, xuất phát từ gốc. Nơi tiếp giáp giữa cuống lá và phiến có hai tuyến nhỏ. Hoa mọc thành chùm. Quả nang, chia thành 3 ngăn rõ rệt; mỗi ngăn chứa một hạt màu nâu.

Lá khô giòn, dễ bẻ, vỏ ra có mùi thơm nhẹ, vị hơi chát, se lưỡi.

Vĩ phẫu

Lá: mặt cắt ngang gân giữa và một ít phiến lá ở hai bên có dạng lõi ở hai mặt trên và dưới. Biểu bì trên gần như không có lông, bề mặt của biểu bì dưới phủ đầy lông. Mỗi lông hình khiên được cấu tạo bởi nhiều tế bào dài, thành mỏng, trong suốt và hơi nhọn ở đầu, kết dính nhau tạo thành. Chân lông ngắn, có màu vàng nâu. Nhìn trên bề mặt biểu bì tách ra, lông có dạng hoa cúc đồng tiền gồm nhiều “cánh” tỏa tròn xếp trên một mặt phẳng với chân lông là vòng tròn nhỏ ở giữa. Xen lẫn giữa các tế bào biểu bì bình thường rải rác có tế bào biểu bì tiết to hơn, chứa chất tiết màu vàng nhạt đôi khi kết thành khối.

Phần gân giữa: Ở mặt trên và dưới rải rác có biểu bì tiết. Ngay sát biểu bì có mô dày góc ứng với phần lõi trên và dưới. Ở lá non, bó libe gỗ có hình cung. Ở lá trưởng thành, bó libe gỗ gồm nhiều đám rời xếp theo vòng tròn với gỗ ở vòng trong và libe ở vòng ngoài. Mô mềm của vùng gân giữa có nhiều tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai và ống nhựa mù cắt ngang còn chứa chất nhựa dầu màu vàng nhạt.

Phần phiến lá: Sát biểu bì trên là một hàng mô giậu gồm các tế bào hình chữ nhật nhỏ và dài, rải rác có một số tế bào mô giậu to hơn chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai, bên dưới mô giậu là mô khuyết. Tinh thể calci oxalat có ít trong vùng mô giậu và có nhiều hơn trong vùng mô khuyết.

Thân: Thiết diện hơi tròn hoặc có chỗ lồi lõm. Ngoài cùng là biểu bì mang lông hình khiên như ở lá. Dưới biểu bì là nhiều lớp mô dày góc, rải rác có ống nhựa mù xen lẫn. Mô mềm vỏ và tủy có chứa nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai, hạt tinh bột hình đa giác thường tụ thành đám và ống nhựa mù xếp rải rác. Ở thân già có đám sợi trụ bì ở vùng sát bên ngoài libe cấp 1. Lớp libe cấp 2 khá dày với nhiều mạch rây to. Gỗ cấp hai gồm mô mềm gỗ thẳng hàng và mạch gỗ to. Gỗ cấp 1 khá rõ với nhiều đám nhô hẳn vào vùng tủy. Libe trong tủy tụ thành từng đám to, vách khá dày, tế bào nhỏ hơn tế bào mô mềm tủy.

Bột

Bột dược liệu có màu xanh lá, ít có xơ, mùi thơm nhẹ, vị hơi chát, se lưỡi. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì có mang nhiều lông hình khiên và lỗ khí kiểu song bào. Lông hình khiên còn nguyên vẹn hay vỡ thành nhiều mảnh. Mảnh mạch vạch, mạch mạng. Hạt tinh bột riêng lẻ hay dính thành chùm. Đoạn sợi thành dày, không thấy ống trao đổi. Mảnh mô mềm chứa tinh bột. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Khối nhựa màu vàng nhạt.

Định tính

A. Lấy khoảng 2 g bột dược liệu vào bình nón dung tích 100 ml, thêm 25 ml *dung dịch acid sulfuric 2 % (TT)*. Đun trong cách thủy ở 100 °C trong 10 phút, lọc. Lấy khoảng 1 ml dịch lọc cho vào chén sứ trắng. Thêm 5 giọt đến 6 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Để yên khoảng 1 phút sẽ có tủa màu cam sẫm. Lấy khoảng 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu nâu đen.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel 60 F₂₅₄

Dung môi khai triển: Benzen - ethyl acetat (95 : 5)

Dung dịch thử: Lấy khoảng 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)*. Đun hồi lưu cách thủy ở 100 °C trong 20 phút. Lọc qua giấy lọc. Cô cách thủy dịch lọc đến cạn, hòa cạn trong 2 ml *ethyl acetat (TT)*,

để bốc hơi còn khoảng 1 ml, dùng dung dịch này làm dịch thử. Hoặc sử dụng cặn còn lại trong mục “Chất chiết được trong dược liệu” hòa tan trong 2 ml *ethyl acetat (TT)* để làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Khổ sâm (mẫu chuẩn), thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát màu sắc các vết ở ánh sáng thường và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Sau đó phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin - sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong khoảng 5 phút. Trên sắc đồ chưa phun thuốc hiện màu của dung dịch thử phải có vết trên cùng màu vàng tươi ở ánh sáng thường, phát quang màu xanh lơ khi soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm và cho màu tím đậm khi phun thuốc hiện màu với giá trị R_f khoảng 0,8. Ngoài ra còn có nhiều hơn 4 vết màu tím hay xanh tím và một số vết màu lục vàng hay xanh lá, có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ thân cành

Không quá 20,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch lá và ngọn non quanh năm, rửa sạch, cắt thành từng đoạn dài khoảng 1 cm đến 3 cm, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô. Khi dùng sao vàng.

Bảo quản

Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh

Vị đắng, hơi ngọt, hơi chát; tính mát. Vào các kinh can, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, tiêu độc, sát trùng. Chủ trị: Ung nhọt, lở loét ngoài da, viêm mũi, tiểu ra máu, viêm loét dạ dày tá tràng, tiêu hóa kém.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 15 g đến 20 g lá sao vàng, dạng thuốc sắc. Dùng ngoài lấy nước sắc đặc để rửa, chữa mụn nhọt, lở ngứa.

KHUÔNG HOẠT (Thân rễ và rễ)***Rhizoma et Radix Notopterygii***

Thân rễ và rễ đã phơi khô của cây Khương hoạt (*Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang) hoặc Khương hoạt lá rộng (*Notopterygium forbesii* Boiss.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Khương hoạt: Thân rễ hình trụ, hơi cong queo, dài 4 cm đến 13 cm, đường kính 0,6 cm đến 2,5 cm, đầu thân rễ có sẹo gốc thân khí sinh. Mặt ngoài màu nâu đến nâu đen. Nơi bị tróc vỏ ngoài màu vàng, khoảng giữa các đốt ngắn, có vòng mấu nhỏ, gần liền nhau, tựa như hình con tằm (quen gọi là Tằm khương), hoặc khoảng giữa có các đốt kéo dài dạng đốt tre (gọi là Trúc tiết khương). Trên đốt có nhiều sẹo rễ con, dạng điểm hoặc dạng bướu và vẩy, màu nâu. Thở nhẹ, chất giòn xốp, dễ bẻ gãy. Mặt bẻ không phẳng, có nhiều kẽ nứt. Vỏ màu từ vàng nâu đến nâu tối, có chất dầu, có điểm chấm dầu, màu nâu. Gỗ màu trắng vàng, tia ruột xếp theo hướng xuyên tâm rõ. Lõi (ruột) màu vàng đến vàng nâu. Mùi thơm, vị hơi đắng và cay.

Khương hoạt lá rộng (Khoan diệp khương hoạt): Rễ dạng chùy tròn, có vân nhân dọc và lỗ vỏ dọc, mặt ngoài màu nâu, nơi gần thân rễ, có vân tròn sát liền nhau, dài 8 cm đến 15 cm, đường kính 1 cm đến 3 cm (quen gọi là điều khương). Thân rễ thô, hình trụ to, dạng có đốt, có mấu không đều, đỉnh có nhiều vết gốc thân khí sinh và rễ tương đối nhỏ còn sót lại (gọi là Đại đầu khương), chất giòn, xốp, dễ bẻ, mặt bẻ hơi phẳng. Vỏ màu nâu nhạt. Gỗ màu trắng vàng. Mùi nhẹ, vị nhạt.

Bột

Màu nâu, mùi thơm hắc, vị đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bản, tế bào chứa tinh dầu, khối tinh dầu màu vàng, ống tiết.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Hàm lượng tinh dầu

Không dưới 2,8 % tính theo dược liệu khô kiệt (Phụ lục 12.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 15,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân, mùa thu, đào lấy rễ và thân rễ, loại bỏ rễ con và đất, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, khô, ôn. Vào các kinh bàng quang, can, thận.

Công năng, chủ trị

Tán phong hàn, trừ phong thấp, chỉ thống. Chủ trị: Cảm mạo phong hàn (mình đau không có mồ hôi), phong chạy khắp người, mình, chân, tay, các khớp đau nhức nặng nề, thiên về đau ở nửa người trên.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Chứng thực nhiệt, hư nhiệt không nên dùng.

KIM ANH (Quả)***Fructus Rosae laevigatae***

Quả già đã phơi hay sấy khô của cây Kim anh (*Rosa laevigata* Michx.). Họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả

Quả già (đé hoa lõm biến thành) vỏ dọc, hình bầu dục, dài 2 cm đến 4 cm, rộng 0,3 cm đến 1,2 cm. Mép cắt thường uốn gập lại. Mặt ngoài màu da cam, nâu đỏ hoặc nâu sẫm bóng, hơi nhăn nheo, có vết của gai đã rụng. Đầu trên mang vết tích của lá đài và nhị. Đầu dưới còn sót lại một đoạn cuống ngắn. Phần lớn đã được nạo sạch hạt (quả đóng) và lông. Quả đóng có góc, màu vàng nâu nhạt, rất cứng, có nhiều lông tơ. Vị hơi ngọt, chát.

Định tính

Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 15 ml *nước cất*, đun cách thủy 5 phút, lắc đều, lọc. Dùng dịch lọc để tiến hành các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 0,5 ml *dung dịch natri hydrocarbonat* 20 % (TT), thêm một giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT). Lắc, dung dịch có màu tím đậm. Thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric* 10 % (TT), dung dịch mất màu.

Lấy 0,5 ml dịch lọc, thêm 1 ml *thuốc thử Fehling* (TT), đun sôi, xuất hiện tủa đỏ gạch.

Nhỏ 1 giọt dịch lọc trên phiến kính, thêm 2 giọt *dung dịch phenylhydrazin hydroclorid* 10 % (TT), đẩy lá kính lên. Vài phút sau soi kính hiển vi thấy có tinh thể hình kim màu vàng.

Lắc mạnh 2 ml dịch lọc trong 1 phút, xuất hiện nhiều bọt.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ quả không nạo sạch "Hạt" và "Lông": Không quá 3,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Chế biến

Thu hái vào tháng 10 đến 11, khi 'quả' chín tới biến thành màu đỏ, phơi khô, loại bỏ gai cứng.

Bào chế

Kim anh: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, sấy khô.

Kim anh nhục (thịt 'quả' Kim anh): Lấy quả Kim anh sạch, ngâm mềm, bỏ đôi, nạo hết 'hạt' (quả đóng) và lông ở trong, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Toan, cam, sáp, bình. Vào các kinh phế, thận, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Cổ tinh sáp niệu, sáp trường, chỉ tả. Chủ trị: Di tinh, hoạt tinh, di niệu, niệu tần (tiểu nhiều lần); băng kinh, rong huyết, ỉa chảy, lỵ lâu ngày.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán; thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Có thấp nhiệt, tiểu tiện bí, rất không nên dùng.

KIM NGÂN (Cuộng)***Caulis cum folium Lonicerae***

Cành và lá phơi hay sấy khô của cây Kim ngân (*Lonicera japonica* Thunb.) và một số loài khác cùng chi như *L. dasystyla* Rehd.; *L. confusa* DC. và *L. cambodiana* Pierre ex Danguy, họ Kim ngân (Caprifoliaceae).

Mô tả

Đoạn thân hình trụ dài 2 cm đến 5 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,5 cm, vỏ ngoài màu nâu nhạt đến nâu sẫm, bên trong màu vàng nhạt, lõi xốp hoặc rỗng. Lá khô nguyên dạng hình trứng, mọc đối, dài 3 cm đến 5 cm, cuống ngắn, cả hai mặt có lông mịn. Mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.

Vi phẫu

Thân: Mặt cắt ngang có thiết diện tròn. Biểu bì gồm một lớp tế bào nhỏ, đều đặn, mang nhiều lông che chở. Mô dày gồm 2 đến 3 hàng tế bào thành dày xếp sát dưới lớp biểu bì. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình tròn, thành mỏng. Tế bào không đều có thành dày hóa gỗ tạo thành một vòng phía trong mô mềm vỏ. Libe tạo thành vòng liên tục. Các mạch gỗ xếp thành hàng, các hàng tập hợp lại thành bó. Mô mềm

ruột gồm các tế bào hình đa giác tròn, có thành hóa gỗ nhiều, tế bào cang ở trong kích thước càng lớn dần. Cành già thường có khuyết ở trung tâm.

Gân giữa lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một lớp tế bào xếp đều đặn thành ngoài hóa cutin mang nhiều lông che chở. Mô dày xếp sát biểu bì trên và biểu bì dưới gồm 3 đến 4 lớp tế bào hình đa giác tròn có thành dày ở góc. Mô mềm cấu tạo bởi các tế bào hình đa giác, có kích thước lớn, thành mỏng, rải rác mang tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Bó libe gỗ ở giữa gân lá. Libe tạo thành vòng bao quanh gỗ.

Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một hàng tế bào phía ngoài hóa cutin, rải rác mang lông che chở. Mô giậu gồm các tế bào hình chữ nhật xếp vuông góc với biểu bì trên.

Bột

Bột màu nâu nhạt, mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng. Lông che chở đơn bào, thành dày, nhẵn, chân lông hơi phình. Lông che chở đa bào có đầu lông loe rộng hình dùi trống. Mảnh biểu bì mang lông che chở. Mạch dẫn có các loại mạch vạch, mạch điểm, mạch mạng, mạch xoắn. Hạt tinh bột đơn, kép đôi hay kép ba. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh mô mềm phiến lá. Mảnh biểu bì mang lỗ khí.

Định tính

A. Lấy 10 g bột dược liệu cho vào bình nón có dung tích 100 ml, thêm 20 ml *ethanol* 90 % (TT). Lắc kỹ, đun cách thủy trong 15 phút, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến khi còn khoảng 5 ml. Lấy 1 ml dịch chiết vào ống nghiệm, thêm 2 giọt đến 3 giọt *acid hydrochloric* (TT) và một ít bột *magnesi* (TT) hoặc bột *kẽm* (TT), dung dịch chuyển từ màu vàng sang da cam đến đỏ.

B. Lấy 1 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml *nước cất*, lắc nhẹ trong 5 phút, lọc. Cho vào 2 ống nghiệm, mỗi ống 2 ml dịch lọc. Thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT) vào ống nghiệm thứ nhất, dung dịch có màu vàng đậm hơn so với ống nghiệm thứ hai không thêm dung dịch natri hydroxyd 10 %.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Hái cành mang lá, loại bỏ tạp chất, cắt khúc dài 2 cm đến 5 cm, phơi trong bóng râm hay sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh sâu mọt.

Tính vị qui kinh

Vị ngọt, tính hàn, vào kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, giải độc. Chủ trị: Ho do phế nhiệt, ban sởi, mụn nhọt, mày đay, lở ngứa, nhiệt độc, lỵ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 15 g đến 30 g, dạng thuốc sắc.

KIM NGÂN (Hoa)***Flos Lonicerae***

Nụ hoa có lẫn một số hoa phơi hay sấy khô của cây Kim ngân (*Lonicera japonica* Thunb.) và một số loài khác cùng chi như *L. dasystyla* Rehd.; *L. confusa* DC. và *L. cambodiana* Pierre, họ Kim ngân (Caprifoliaceae).

Mô tả

Nụ hoa hình ống hơi cong queo, dài 1 cm đến 5 cm, đầu to, đường kính khoảng 0,2 cm đến 0,5 cm. Mặt ngoài màu vàng đến nâu, phủ đầy lông ngắn. Phía dưới ống tràng có 5 lá đài nhỏ, màu lục. Bóp mạnh đầu nụ sẽ thấy 5 nhị và 1 vòi nhụy. Mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.

Hoa đã nở dài từ 2 cm đến 5 cm, tràng chia thành 2 môi cuộn ngược lại. Môi trên xẻ thành 4 thùy, môi dưới nguyên. Nhị và vòi nhụy thường thò ra ngoài tràng hoa.

Bột

Bột màu vàng nâu nhạt, có mùi thơm nhẹ. Hạt phần hình cầu, đường kính 53 µm đến 62 µm, màu vàng, có 3 lỗ rãnh này mầm rõ, bề mặt có nhiều gai nhỏ, thưa. Lông tiết gồm 2 loại: Lông tiết đầu hình chùy cấu tạo bởi 20 tế bào đến 30 tế bào và lông tiết đầu hình cầu gồm khoảng 10 tế bào. Lông che chở đơn bào cũng gồm 2 loại: Một loại thành dày, nhẵn hoặc có những chấm lồi nhỏ, một loại thành mỏng, vết lồi rất rõ. Mảnh biểu bì cánh hoa có lông tiết, lông che chở.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào bình nón có dung tích 100 ml, thêm 20 ml *ethanol* 90 % (TT). Lắc kỹ, đun cách thủy trong 15 phút, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến khi còn khoảng 5 ml. Lấy 1 ml dung dịch vào ống nghiệm, thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch acid hydrochloric* (TT) và một ít bột *magnesi* (TT) hoặc bột *kẽm* (TT), dung dịch chuyển từ màu vàng sang da cam đến đỏ.

B. Lấy 1 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml *nước cất*, lắc nhẹ trong 5 phút, lọc. Cho vào 2 ống nghiệm, mỗi ống 2 ml dịch lọc. Thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT) vào ống nghiệm thứ nhất, dung dịch có màu vàng đậm hơn so với ống nghiệm thứ hai không thêm dung dịch natri hydroxyd 10 %.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ cành lá: Không quá 2 %.

Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Tỷ lệ hoa đã nở

Không quá 10 % (cân 100 g hoa Kim ngân, chọn riêng hoa đã nở, cân và tính tỷ lệ phần trăm).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 29,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 96 % làm dung môi.

Chế biến

Hái nụ hoa có lẫn ít hoa đã nở, loại bỏ tạp chất, phơi trong bóng râm hay sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản

Đề nơi khô mát, tránh sâu mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn. Vào các kinh phế, vị, tâm.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, giải độc, tán phong nhiệt. Chủ trị: Ung nhọt, ban sởi, mày đay, lở ngứa, cảm mạo phong nhiệt, ôn bệnh phát nhiệt, nhiệt độc huyết li.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 16 g, dạng thuốc sắc hoặc hãm. Có thể ngâm rượu làm hoàn tán.

Kiểm kỵ

Tỷ vị hư hàn ỉa chảy, hoặc vết thương, mụn nhọt có mủ loãng do khí hư; mụn nhọt đã có mủ, vỡ loét không nên dùng.

KIM TIỀN THẢO***Herba Desmodii styracifolii*****Đồng tiền lông, Vẩy rồng, Mắt trâu**

Phần trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Kim tiền thảo [*Desmodium styracifolium* (Os.) Merr.], họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Dược liệu có thân hình trụ, cắt ngắn thành đoạn dài 3 cm đến 5 cm, đường kính khoảng 0,2 cm đến 0,3 cm, phủ đầy lông mềm, ngắn, màu vàng. Chất hơi giòn, mặt bề lõm chớm. Lá đơn hay kép mọc so le, lá kép gồm 3 lá chét, tròn hoặc thuôn, đường kính 2 cm đến 4 cm,

đỉnh tròn, tù, gốc hình tim hoặc tù, mép nguyên, mặt trên màu lục hơi vàng hoặc màu lục xám, nhẵn; mặt dưới hơi trắng, có lông. Gân hình lông chim, cuống dài 1 cm đến 2 cm, hai lá kèm hình mũi mác dài khoảng 0,8 cm. Mùi thơm.

Vi phẫu

Lá: Có gân lồi ở mặt dưới. Tế bào biểu bì của gân chính có kích thước nhỏ hơn so với tế bào ở phiến lá. Mặt trên của phiến lá nhẵn, mặt dưới mang nhiều lông che chở và lông tiết. Lông che chở có loại đa bào, dài (chân có 1 tế bào đến 2 tế bào rất ngắn, tế bào ở đầu rất dài), cũng có loại đơn bào ngắn hơn và đầu thường cong hình móc câu. Lông tiết đa bào có chân phình to gồm nhiều tế bào, phía trên lông thon nhỏ, đầu tù. Mô mềm giậu và mô mềm ở 2 bên phiến lá hơi lún sâu vào phần gân lá khá đặc biệt. Lớp mô dày góc nằm sát biểu bì trên và dưới của gân chính. Đám mô cứng nhỏ có hình tròn rất đặc sắc bao bọc bó libe-gỗ phụ, nằm sát lớp mô dày trên. Bó libe-gỗ chính hình cung, sát libe là một vòng mô cứng, đa số phát triển thành sợi.

Thân: Mặt cắt gần như tròn. Biểu bì gồm những tế bào khá nhỏ mang nhiều lông che chở, lông tiết (giống như ở lá). Mô dày phiến gồm 2 đến 3 lớp tế bào. Mô mềm vỏ đặc, thỉnh thoảng xen kẽ những khoảng gian bào, thành hơi nhẵn. Ở vùng sát với mô cứng thường có chứa tinh thể calci oxalat hình khối lập phương. Mô cứng thường hóa sợi tạo thành cung phủ lên bó libe. Bó libe-gỗ gồm libe cấp 1 là những tế bào nhỏ có thành mỏng, xếp lộn xộn, có nhiều quản bào. Libe cấp 2 gần như liên tục gồm những tế bào xếp đồng tâm và xuyên tâm khá đều đặn. Gỗ tạo từng bó gồm gỗ cấp 2 và gỗ cấp 1, xen kẽ giữa những tia gỗ. Tầng sinh libe-gỗ khá liên tục. Mô mềm tủy rộng, cấu tạo bởi những tế bào hình nhiều cạnh, rải rác có tinh thể calci oxalat hình khối lăng trụ (nằm sát phần bị nhuộm màu xanh với thuốc nhuộm carmin-lục iod) rất đặc biệt.

Bột

Bột có màu lục nhạt, mùi thơm, vị ngọt nhạt. Soi kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào gồm chân có 1 tế bào đến 2 tế bào rất ngắn, phần trên của lông rất dài, có đầu nhọn; cũng có loại lông che chở đơn bào ngắn, đầu nhọn hay có móc hình câu. Lông tiết đa bào chân phình to gồm 2 hàng tế bào, mỗi hàng khoảng 4 tế bào đến 5 tế bào với chất tiết màu vàng, phần trên của lông thuần dài, đầu tù. Mảnh biểu bì mang lông che chở và lỗ chân lông bị gãy còn sót lại, có hình tròn. Lỗ khí kiểu song bào (1 to, 1 nhỏ) thường nằm rời. Mảnh biểu bì dưới của lá mang đầy lông che chở. Mảnh biểu bì thân gồm những tế bào dài, thành mỏng bên trong thường có rải rác vết sắc tố màu nâu, vàng nâu. Thỉnh thoảng có tế bào mô cứng có thành dày. Nhiều bó sợi bị tưa ra. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn, mạch điểm.

Định tính

A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 50 ml nước, đun nóng trong cách thủy trong 15 phút, thỉnh thoảng lắc nhẹ. Để nguội, lọc qua giấy lọc, bốc hơi dịch lọc đến cạn. Hòa tan cân bằng 5 ml ethanol 96 % (TT) được dung dịch A.

Lấy 2 ml dung dịch A, thêm vào một ít bột magnesi (TT) và 3 giọt đến 5 giọt acid hydrochloric (TT), sẽ xuất hiện màu hồng đến đỏ.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - pyridin - methanol - nước (70 : 20 : 10 : 10).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 50 ml methanol (TT). Đun hồi lưu trên cách thủy 15 phút, lấy dịch chiết, lọc qua giấy lọc, cô dịch lọc trên cách thủy đến còn 5 ml. Lắc dịch còn lại lần lượt với mỗi 10 ml n-hexan (TT), ethyl acetat (TT), n-butanol (TT). Cô cách thủy dịch n-butanol đến còn khoảng 2 ml.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Kim tiền thảo (mẫu chuẩn). Tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí, phun dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT) và dung dịch natri hydroxyd 5 % trong ethanol (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C khoảng 10 phút. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc (vết màu vàng của isoschaftosid, R_f khoảng 0,63) và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Tro toàn phần không quá 8,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrochloric

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Thân già và rễ: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được dưới 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng ethanol 95 % làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ, mùa thu, rửa sạch dược liệu, loại bỏ tạp chất, cắt thành đoạn ngắn, phơi khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt đoạn và phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn, lương. Quy vào các kinh can, đờm, thận, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Thanh thấp nhiệt, lợi tiểu. Chủ trị: Nhiệt lâm, thạch lâm, phù thũng, hoàng đản.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 15 g đến 30 g. Dạng thuốc sắc.

KINH GIỚI***Herba Elsholtziae ciliatae*****Bán biên tô, Tiểu kinh giới, Bài hương thảo**

Đoạn ngọn cành mang lá, hoa, đã phơi hay sấy khô của cây Kinh giới [*Elsholtzia ciliata* (Thunb) Hyland.], họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Đoạn thân hoặc cành dài 30 cm đến 40 cm, thân vuông, có lông mịn. Lá mọc đối hình trứng, dài 3 cm đến 9 cm, rộng 2 cm đến 5 cm, mép có răng cưa, gốc lá dạng nêm, men xuống cuống lá thành cánh hẹp, cuống dài 2 cm đến 3 cm. Cụm hoa là một xim co ở đầu cành, dài 2 cm đến 7 cm, rộng 1,3 cm. Hoa nhỏ, không cuống, màu tím nhạt. Quả bé nhỏ, tròn, nhẵn bóng, dài 0,5 cm, Dược liệu mùi thơm đặc biệt, vị cay.

Vi phẫu

Thân: Biểu bì gồm một hàng tế bào hình chữ nhật, có lông che chở đa bào gồm 5 tế bào đến 7 tế bào và lông tiết chân đơn bào đầu đa bào. Mô dày sát biểu bì, ở những chỗ lõm của thân lớp mô dày thường dày hơn. Mô mềm vỏ. Libe cấp 2. Tầng sinh libe-gỗ. Gỗ cấp 2 tạo thành một vòng liên tục. Mô mềm ruột.

Bột

Bột màu nâu đen, mùi thơm, vị cay. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì lá có nhiều lỗ khí và lông tiết, tế bào bạn của lỗ khí giống tế bào biểu bì, thành tế bào ngoằn ngoèo. Mảnh thân tế bào hình đa giác. Hạt phấn hoa màu vàng. Mảnh mạch mạng, mạch vạch.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Đoạn ngọn cành dài quá 40 cm: Không quá 4,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Chế biến

Lúc trời khô ráo, cắt lấy đoạn cành có nhiều lá và hoa, đem phơi hoặc sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bào chế

Kinh giới rửa sạch, thái ngắn 2 cm đến 3 cm để dùng sống, có thể sao qua hoặc sao cháy cho bớt thơm cay.

Bảo quản

Để nơi khô mát, trong bao bì kín.

Tính vị, quy kinh

Tân, vị khổ, ôn. Vào các kinh can, phế.

Công năng, chủ trị

Giải biểu, khu phong, chỉ ngứa, tuyên độc thấu chẩn. Chủ trị: Cảm mạo, phong hàn, phong nhiệt, phong cảm khẩu, mụn nhọt, dị ứng, sỏi mọc không tốt.

Sao đen: Chỉ huyết. Chủ trị: rong huyết, băng huyết, thổ huyết, đại tiện ra máu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 16 g dược liệu khô, hoặc 30 g dược liệu tươi, dưới dạng thuốc sắc hoặc hãm. Dùng ngoài, lượng thích hợp, sao vàng chà sát da khi bị dị ứng ngứa.

Kiêng kỵ

Biểu hư, tự ra mồ hôi nhiều, không có ngoại cảm, phong hàn không nên dùng.

LÁ HEN***Folium Calotropis*****Bồng bồng, Nam tỳ bà**

Lá phơi hay sấy khô của cây Lá hen [*Calotropis gigantea* (L.) Dryand. ex Ait. f.], họ Thiên lý (Asclepiadaceae).

Mô tả

Lá có cuống ngắn khoảng 0,5 cm, lá to hình thuôn dài, dài từ 12 cm đến 20 cm, rộng 5 cm đến 10 cm, hai mặt đều có lông trắng, mặt dưới nhiều hơn. Mặt dưới lá có gân nổi rõ, gân giữa rộng và có một tuyến lớn ở phía gần cuống lá. Xung quanh tuyến có lông màu hung đỏ, hơi cứng và thô.

Vi phẫu

Phân gân lá: Phía trên phẳng, phía dưới lõm. Biểu bì trên và dưới là một lớp tế bào nhỏ xếp đều đặn, có lông che chở đa bào (biểu bì dưới có nhiều lông hơn). Mô dày nằm dưới biểu bì là gồm 2 đến 3 lớp tế bào hình tròn, thành dày. Tiếp đến là mô mềm, gồm những tế bào lớn hơn, hình trứng hay hình đa giác, có thành mỏng, kích thước không đều nhau, có ống nhựa mù nằm rải rác trong mô mềm, hoặc trong mạch gỗ. Bó libe-gỗ gân chính gồm có cung gỗ gồm những mạch gỗ, xếp thành dãy, bao bọc bởi vòng libe. Rải rác có tinh thể calci oxalat hình cầu gai đường kính 0,03 mm đến 0,04 mm, trong tế bào mô mềm.

Phân phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một hàng tế bào nhỏ, xếp thành hàng đều đặn, rải rác có lỗ khí. Trên biểu bì, mang lông che chở đa bào. Phía dưới biểu bì trên là mô giậu, gồm 3 đến 4 hàng tế bào hình chữ nhật, xếp vuông góc với mặt lá. Mô mềm, gồm những tế bào thành mỏng, xếp sát nhau, để hở những khoảng gian bào. Rải rác trong phiến lá có mạch xoắn, bó libe-gỗ, libe ở ngoài, gỗ ở trong.

Bột

Có màu lục nhạt, vị đắng hơi chát. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì có nhiều lỗ khí và lông che chở đa bào. Nhiều lông che chở đa bào, thành mỏng, trong suốt. Nhiều mảnh mạch xoắn, rải rác có các mảnh mạch vạch. Rải rác có các tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Định tính

A. Lấy khoảng 20 g bột thô dược liệu, cho vào bình nón, thể tích 250 ml. Thêm 70 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Đun sôi 10 phút. Lọc, chuyển dịch lọc vào bình gạn dung tích 100 ml. Kiểm hóa dịch lọc bằng *dung dịch amoniac 25 % (TT)* tới pH 10. Chiết alcaloid bằng *cloroform (TT)* (10 ml × 3 lần). Gộp dịch chiết cloroform, rồi lắc với *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* (5 ml × 3 lần). Cô dịch chiết còn khoảng 3 ml, sau đó cho vào 3 ống nghiệm nhỏ, mỗi ống 1ml. Tiến hành các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa vàng cam.

Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.

Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac (50 : 9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 10 g bột thô dược liệu, loại tạp bằng ether dầu hỏa trong bình Soxhlet, tải bã dược liệu để bay hết dung môi. Thâm ẩm dược liệu bằng *dung dịch amoni hydroxyd 10 % (TT)*. Chiết tiếp bằng *cloroform (TT)* trong dụng cụ Soxhlet tới khi hết alcaloid. Thu hồi cloroform trong dịch chiết dưới áp suất giảm được cần, hòa tan cần trong 1 ml *ethanol (TT)* làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Lá hen (mẫu chuẩn), tiến hành như với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun *thuốc thử vanilin - acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng vị trí và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tro toàn phần

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Chế biến

Thu hái vào tháng 9 đến tháng 11. Lau sạch phần trắng ở mặt sau lá. Phơi khô. Khi dùng rửa sạch, để ráo nước, thái chỉ, sao qua hoặc tẩm mật ong, sao vàng.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để ở nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Vị đắng, hơi chát, tính mát. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị

Trừ đờm, giảm ho, giáng khí nghịch, tiêu độc. Chủ trị: Hen suyễn kèm theo ho, nhiều đờm; dùng ngoài, trị bệnh ngoài da: ngứa lở, mụn nhọt, đau răng, rấn cắn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai và trẻ em dưới 1 tuổi.

LÁ LỐT***Herba Piperis lolot***

Phần trên mặt đất tươi hay phơi sấy khô của cây Lá lốt (*Piper lolot* C. DC.), họ Hồ tiêu (Piperaceae).

Mô tả

Đoạn ngọn cành dài 20 cm đến 30 cm. Lá nhẵn nheo, nhàu nát. Mặt trên lá màu lục xám, dưới lục nhạt. Lá hình tim dài 5 cm đến 12 cm, rộng 4 cm đến 11 cm. Đầu lá thuôn nhọn, gốc hình tim, phiến mỏng, mép nguyên, có 5 gân chính tỏa ra từ cuống lá, gân giữa thẳng, dài, rõ, các gân bên hình cung, gân cấp 1 hình lông chim, gân cấp 2 hình mạng. Cuống dài 2 cm đến 3,5 cm, gốc cuống lá ôm lấy thân. Thân hình trụ, phình ra ở các mấu, mặt ngoài có nhiều đường rãnh dọc.

Vị phẫu

Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào xếp đều đặn, biểu bì dưới của gân lá mang lông che chở đơn bào và đa bào ngắn, đầu nhọn có từ 2 tế bào đến 3 tế bào xếp thành dãy, lỗ khí ở mặt dưới phiến lá. Đám mô dày xếp sát biểu bì trên và biểu bì dưới. Mô mềm gồm tế bào tròn, thành mỏng. Một bó libe-gỗ to nằm giữa gân lá, gồm có vòng mô dày bao bọc xung quanh, bó gỗ có nhiều mạch to xếp phía trên, cung libe ở phía dưới. Phiến lá có mô mềm đồng hóa xếp giữa hai lớp hạ bì, tế bào nhỏ, thành mỏng xếp lộn xộn. Rải rác có tế bào tiết tinh dầu trong mô mềm và trong libe.

Bột

Màu lục xám, mùi thơm, vị hơi đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì trên của lá gồm tế bào thành mỏng, hình nhiều cạnh, mang tế bào tiết. Mảnh biểu bì dưới là tế bào thành mỏng, nhẵn, mang lỗ khí và tế bào tiết. Tế bào tiết màu vàng, xung quanh có khoảng 6 tế bào sắp xếp tỏa ra. Tế bào biểu bì dưới gân lá hình nhiều cạnh, thành mỏng, mang lông che chở đơn bào hay đa bào ngắn, đầu nhọn. Mảnh thân cây: Tế bào hình nhiều cạnh, mang lỗ vỏ, lông che chở và tế bào tiết, có khi

lông đã rụng để lại những vết tròn nhỏ. Sợi mô cứng thành mỏng hay hơi dày, khoang rộng. Mảnh mạch xoắn, mạch mạng, mạch điểm.

Định tính

Cân 3 g bột dược liệu cho vào bình nón, làm ẩm bằng *amoniac đậm đặc* (TT), thêm 50 ml hỗn hợp đồng thể tích *ether* (TT) và *cloroform* (TT), lắc, lọc. Chuyển dịch lọc vào bình gạn, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 %* (TT). Lắc, gạn lấy phần dịch acid (dung dịch A) và làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 1 giọt *thuốc thử Bouchardat* (TT), xuất hiện tủa nâu.

Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 1 giọt *dung dịch acid picric 1 %* (TT), xuất hiện tủa vàng.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tạp chất

Tạp chất không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 3,15 mm: Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến

Thu hoạch quanh năm, lúc trời khô ráo, cắt lấy cây, loại bỏ gốc rễ, đất, đem phơi hay sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bảo quản

Đề nơi khô, tránh làm rụng lá, mất màu và mùi thơm.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn, mùi thơm. Vào các kinh tỷ, phế.

Công năng, chủ trị

Ôn trung tán hàn, hạ khí chỉ thống. Chủ trị: Phong hàn thấp, chân tay lạnh, tê bại. Rối loạn tiêu hóa, nôn mửa, đầy hơi, đau bụng ỉa chảy, thận và bàng quang lạnh, đau răng, đau đầu, chảy nước mũi hôi.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 12 g lá khô hoặc từ 15 g đến 30 g lá tươi, dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài: sắc đặc, ngâm chữa đau răng.

Kiêng kỵ

Vị nhiệt, táo bón không nên dùng.

LẠC TIÊN

Herba Passiflorae foetidae

Phần trên mặt đất đã phơi hoặc sấy khô của cây Lạc tiên (*Passiflora foetida* L.), họ Lạc tiên (*Passifloraceae*).

Mô tả

Đoạn thân rỗng, dài khoảng 5 cm, mang tua cuốn và lá, có thể có lẫn hoa và quả. Thân và lá có nhiều lông.

Cuống lá dài 3 cm đến 4 cm. Phiến lá mỏng màu lục hay hơi vàng nâu, dài và rộng khoảng 7 cm đến 10 cm, chia thành 3 thùy rộng, đầu nhọn. Mép lá có răng cưa nông, gốc lá hình tim. Lá kèm hình vẩy phát triển thành sợi mang lông tiết đa bào, tua cuốn ở nách lá.

Vĩ phẫu

Lá: Phiến lá gồm biểu bì trên, mô giậu, mô mềm và biểu bì dưới. Biểu bì trên và dưới có lông che chở và lông tiết. Lông che chở đơn bào, nhỏ. Lông tiết có chân đa bào gồm nhiều dãy tế bào xếp thành hàng dọc, thon dần về phía ngọn, đầu đơn bào hình trứng, chứa chất tiết màu vàng.

Gân chính gồm biểu bì trên và dưới, mô dày dưới biểu bì, mô mềm và ở giữa là bó libe-gỗ. Trong libe và rải rác trong mô mềm có tinh thể calci oxalat hình cầu gai có đường kính 7 µm đến 12 µm.

Bột

Có nhiều lông che chở đơn bào, lông tiết đa bào còn nguyên hay bị gãy. Mảnh biểu bì có lỗ khí kiểu hỗn bào. Mảnh mô mềm hay libe có chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh mạch xoắn, mạch vạch.

Định tính

Lấy khoảng 20 g bột dược liệu cho vào bình nón 250 ml, thêm 100 ml *ethanol 90 %* (TT), lắc đều và đun hồi lưu cách thủy khoảng 30 phút. Lọc, lấy dịch lọc chia đều thành 2 phần và cô cách thủy tới cạn khô.

A. Thêm vào phần cần thử nhất 10 ml *n-hexan* (TT) hoặc *ether dầu hỏa* (30 °C đến 60 °C)(TT), dùng đũa thủy tinh khuấy kỹ rồi gạn bỏ lớp dung môi. Làm như vậy thêm một lần nữa. Hoà tan cần còn lại trong 4 ml *ethanol 90 %* (TT), đun nóng nhẹ cho tan. Lọc, lấy 2 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm ít bột *magnesi* (TT) rồi thêm từ từ 0,5 ml *acid hydrochloric* (TT). Lắc nhẹ. Dung dịch sẽ có màu đỏ cam.

B. Thêm vào phần cần thử hai 4 giọt *amoni hydroxyd đậm đặc* (TT) và 5 ml *cloroform* (TT), khuấy kỹ, lọc vào bình gạn 50 ml. Thêm vào bình gạn 4 ml *dung dịch acid sulfuric 1 %* (TT). Lắc kỹ và gạn lớp acid vào ba ống nghiệm:

Ống nghiệm 1: Thêm 1 giọt *thuốc thử Mayer* (TT) sẽ cho tủa màu trắng đục.

Ống nghiệm 2: Thêm 1 giọt *thuốc thử Bouchardat* (TT) sẽ cho tủa đỏ nâu.

Ống nghiệm 3: Thêm 1 giọt *thuốc thử Dragendorff* (TT), cho tủa vàng cam.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrochloric

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).

Tạp chất vô cơ: Không quá 0,5 %.

Tạp chất hữu cơ: Không quá 1,0 %.

Tỷ lệ vụn nát

Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Tỷ lệ lá trên toàn bộ dược liệu: Không ít hơn 25,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 18,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng nước làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân, hạ. Cắt lấy dây, lá, hoa Lạc tiên, thái ngắn, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc, tránh ánh sáng làm biến màu.

Tính vị, quy kinh

Cam, vị khô, lương. Vào các kinh tâm, can.

Công năng, chủ trị

An thần, giải nhiệt, mát gan. Chủ trị: Suy nhược thần kinh, tim hồi hộp, mất ngủ, ngủ mơ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 20 g đến 40 g, dạng thuốc sắc. Ngoài ra có thể uống cao lỏng, siro, rượu thuốc với lượng tương ứng. Nên uống trước khi đi ngủ.

LIÊN KIỀU (Quả)

Fructus Forsythiae suspensae

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Liên kiều [*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl.], họ Nhài (Oleaceae).

Mô tả

Quả hình trứng đến hình trứng hẹp, hơi dẹt, dài 1,5 cm đến 2,5 cm, đường kính 0,5 cm đến 1,3 cm. Mặt ngoài có vết nhăn dọc không đều và nhiều chấm nhỏ nhô lên. Mỗi mặt có một rãnh dọc.

Đỉnh nhỏ, nhọn, đáy có cuống quả nhỏ hoặc vết cuống đã rụng. Có 2 loại quả Liên kiều là Thanh kiều và Lão kiều. Thanh kiều thường không nứt ra, màu nâu lục, chấm nhỏ màu trắng sáng nhô lên ít, chất cứng, hạt nhiều, màu vàng lục, nhỏ dài, một bên có cánh. Lão kiều nứt ra từ đỉnh hoặc nứt thành 2 mảnh, mặt ngoài màu nâu vàng hoặc nâu đỏ, mặt trong màu vàng nâu nhạt, trơn phẳng, có một vách ngăn dọc. Chất giòn dễ vỡ. Hạt màu nâu, dài 5 mm đến 7 mm, một bên có cánh, phần lớn đã rụng. Mùi thơm nhẹ, vị đắng.

Vị phẫu

Mặt cắt ngang vỏ quả: Vỏ ngoài là một hàng tế bào biểu bì có phủ một lớp cutin, thành phía ngoài và bên dày dần lên. Vỏ quả giữa gồm tế bào mô mềm ở phía

ngoài với các bó mạch rải rác và nhiều hàng tế bào đá ở phía trong, tế bào hình dây dài, hình gần tròn hoặc hình bầu dục, thành dày mỏng không đều, thường xếp theo dạng tiếp tuyến xen kẽ, kéo dài tới vách ngăn dọc.

Bột

Bột có màu vàng nâu nhạt, mùi rất thơm, vị hơi chát. Dưới kính hiển vi thấy: Mảnh tế bào mô cứng hoặc tế bào mô cứng riêng lẻ gồm các tế bào hình bầu dục, thuôn dài hoặc gần tròn, thành dày, ống trao đổi có thể nhìn thấy rõ hoặc không rõ. Mảnh tế bào vỏ quả màu vàng nhạt (vỏ quả giữa) hoặc vàng nâu (vỏ quả ngoài) gồm các tế bào hình đa giác, thành mỏng. Mảnh mạch vạch có kích thước nhỏ và ít thấy. Khối nhựa màu nâu đỏ. Mảnh nội nhũ gồm tế bào hình đa giác thành mỏng, trong suốt không màu, chứa nhiều giọt dầu béo. Tế bào vỏ hạt màu nâu đen nằm rải rác trong các tế bào vỏ quả ngoài hay trong tế bào nội nhũ.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm vào 15 ml *methanol* (TT), đun trên cách thủy 2 phút, lọc, dịch lọc được làm các phản ứng sau:

Lấy 5 ml dịch lọc, cô đến cạn, hòa tan cạn trong 1 ml *anhydrid acetic* (TT) và 1 ml *cloroform* (TT), khuấy kỹ cho tan, lọc, cho dịch lọc vào ống nghiệm khô rồi cẩn thận thêm từ từ dọc theo thành ống nghiệm 0,5 ml *acid sulfuric* (TT). Màu tím đỏ xuất hiện giữa 2 lớp dung dịch.

Lấy 5 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, cho thêm 0,1 g bột *magnesi* (TT) và 1 ml *acid hydrocloric* (TT), để yên, sẽ xuất hiện màu từ đỏ nhạt đến đỏ vàng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat - acid formic* (8,5 : 1,5 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 30 ml *ethanol* (TT), siêu âm 15 phút ở 40 °C (3 lần). Lọc, bốc hơi dịch chiết tới cạn. Hòa cạn trong 1 ml *ethanol* (TT) làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Liên kiều (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric* (TT). Sấy khô bản mỏng ở 100 °C tới khi các vết xuất hiện rõ. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f , với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 3,0 % (đối với Thanh kiều), không quá 9 % (đối với Lão kiều) (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không được quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 30 % (đối với Thanh kiều) và không được ít hơn 16 % (đối với Lão kiều) tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 65 % làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu. Thu hái những quả gần chín và hơi xanh lục, loại bỏ tạp chất, đồ chín và phơi khô gọi là Thanh kiều. Thu hái những quả đã chín nục, phơi khô và loại bỏ tạp chất gọi là Lão kiều.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, loại bỏ cuống, chà xát cho nứt quả, sàng bỏ hạt, lõi, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Nơi khô ráo.

Tính vị, qui kinh

Khô, vị hàn. Quy vào kinh tâm, đờm, tam tiêu, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, tiêu sưng tán kết. Chủ trị: Đỉnh nhọt, trảng nhạc, đờm hạch, nhũ ung, đan độc (viêm quầng đỏ); cảm mạo phong nhiệt, ôn bệnh vào tâm bào sốt cao gây háo khát, tinh thần hôn ám (mê sảng), phát ban; lâm lậu kèm bí tiểu tiện.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 15 g, dạng thuốc sắc, thường kết hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người tỳ vị hư hàn, âm hư nội nhiệt, nhọt đã vỡ song mủ loãng.

LONG ĐỎM (Rễ và Thân rễ)***Radix et Rhizoma Gentianae***

Rễ và thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Long đờm (*Gentiana scabra* Bunge), cây Điều điệp long đờm (*Gentiana manshurica* Kitag.), cây Tam hoa long đờm (*Gentiana triflora* Pall.) hoặc cây Kiên long đờm (*Gentiana rigescens* Franch.); họ Long đờm (*Gentianaceae*). Ba loại đều gọi là Long đờm, loại cuối cùng gọi là Kiên long đờm.

Mô tả

Long đờm: Thân rễ có đường kính 0,3 cm đến 1 cm, được cột thành từng bó không đều, xen thành từng đoạn dài 1 cm đến 3 cm, mặt ngoài của thân rễ màu xám thẫm hoặc nâu thẫm, phần trên có những vết sẹo thân hoặc phần sót lại của thân cây, phần xung quanh và phía dưới mang nhiều rễ mảnh.

Rễ hình trụ hơi vắn, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,5 cm, mặt ngoài màu vàng nhạt hay nâu vàng, phần nhiều phía trên có những nếp nhăn ngang rõ rệt, phía dưới hẹp hơn, có những nếp nhăn dọc và vết sẹo của rễ con. Chất giòn, dễ bẻ gãy, mặt gãy hơi bằng phẳng, vỏ trắng vàng hay nâu vàng, gỗ màu nhạt hơn và có vòng chấm chấm. Mùi nhẹ, vị hơi đắng.

Kiên long đờm: Lớp bên ngoài dạng màng, dễ bong, không thấy nếp nhăn ngang. Gỗ màu trắng vàng, dễ tách khỏi vỏ.

Vĩ phẫu

Long đờm: Biểu bì gồm một lớp tế bào, thành phía ngoài tương đối dày. Vỏ hẹp và có khe; nội bì rõ, gồm những tế bào kéo dài theo hướng tiếp tuyến, mỗi tế bào bị chia cắt bởi những thành tế bào kéo dài tạo thành những tế bào nhỏ hơn hình gần chữ nhật. Libe rộng và có khe. Tầng phát sinh không rõ. Mạch được xếp thành 3 đến 10 nhóm. Tủy rõ rệt. Tế bào mô mềm chứa tinh thể calci oxalat hình kim nhỏ.

Kiên long đờm: Các mô ngoài nội bì phần lớn rời rạc. Nội bì rõ rệt. Libe chiếm 2/3 phần tính theo bán kính mặt cắt. Các mạch trong gỗ được phân bố đều đặn và dày đặc tạo thành tia. Không có tủy.

Bột

Màu nâu vàng. Soi kính hiển vi thấy:

Bột Long đờm: Tế bào biểu bì hình thoi khi nhìn trên bề mặt. Tế bào nội bì hình chữ nhật khá rộng khi nhìn trên bề mặt, trên thành tế bào có các nếp nhăn ngang nhỏ, mỗi tế bào bị chia bởi các vách ngăn kéo dài tạo thành những tế bào nhỏ, hầu hết những vách ngăn kéo dài dày lên tạo thành hình chuỗi hạt. Tế bào mô mềm chứa tinh thể calci oxalat hình kim nhỏ. Mạch mạng và mạch hình thang, đường kính khoảng 45 µm.

Bột Kiên long đờm: Không có biểu bì. Tế bào nội bì hình gần vuông hoặc hình chữ nhật, trên thành tế bào có các nếp nhăn ngang tương đối dày và sát nhau, có khi dày tới 3 µm, mỗi tế bào được chia thành vài tế bào nhỏ xếp song song với nhau, vách ngăn hơi dày hoặc dạng chuỗi hạt.

Định tính

A. Lấy 0,5 g bột dược liệu thêm 5 ml *ethanol* 96 % (TT), đun trên cách thủy 15 phút, lọc lấy dịch lọc. Trên một tờ giấy lọc, chấm dịch lọc này thành 3 vết riêng biệt rồi sấy khô giấy lọc. Vết thứ nhất dùng làm vết đối chứng; vết thứ hai được nhỏ chồng thêm 1 giọt *dung dịch kali hydroxyd* 5 % (TT); vết thứ ba được nhỏ chồng thêm 1 giọt *dung dịch nhôm clorid* 1 % trong *methanol* (TT). Quan sát màu các vết dưới ánh sáng tử ngoại 365 nm. Kết quả: vết đối chứng có màu xanh lơ nhạt; vết thứ hai có màu nâu tím; vết thứ ba có màu xanh lơ nhạt, sáng hơn vết chứng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF*₂₅₄.

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - methanol - nước* (8 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol* (TT), đun trên cách thủy trong khoảng 15 phút, lọc, cô dịch lọc trên cách thủy còn khoảng 2 ml thu được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Long đởm (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân và mùa thu, đào lấy thân rễ và rễ, rửa sạch và phơi âm can.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch ủ mềm, cắt đoạn 2 cm đến 3 cm phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Nơi khô, thoáng.

Tính vị, qui kinh

Khô, hàn. Vào các kinh can, đờm, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Thanh thấp nhiệt, tả can đờm hỏa. Chủ trị: Hoàng đản thấp nhiệt, âm hộ sưng ngứa kèm đới hạ, thấp chân, mắt đỏ, tai nghễnh ngãng, sườn đau, miệng đắng, kinh phong co giật.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, phối ngũ trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Tỳ vị hư hàn.

LONG NHÃN

Arillus Longan

Áo hạt (cùi) của quả đã phơi hay sấy khô của cây Nhãn (*Dimocarpus longan* Lour.), họ Bồ hòn (*Sapindaceae*).

Mô tả

Cùi quả nhãn dày mỏng không đều, rách nứt theo thớ dọc, màu vàng cánh gián hay màu nâu, trong mờ, một

mặt nhãn không phẳng, một mặt sáng bóng, có vân dọc nhỏ, dài 1,5 cm, rộng 2 cm đến 4 cm, dày chừng 0,1 cm, thường thấy cùi kết dính. Thê chất mềm nhuận, dẻo dai, sờ không dính tay. Mùi thơm nhẹ, vị ngọt đậm.

Vi phẫu

Mặt cắt ngang: Một hàng tế bào biểu bì ngoài gồm những tế bào hình gần vuông. Một hàng tế bào biểu bì trong gồm những tế bào thành hơi dày và được phủ một lớp cutin hơi dày. Giữa biểu bì ngoài và biểu bì trong là những tế bào mô mềm lớn, hình trụ, đường kính 148 μ m, xếp thành nhiều hàng. Một số tế bào mô mềm có chứa khối chất màu vàng nhạt và những giọt dầu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tạp chất

Tỷ lệ màu nâu sẫm không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 70,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến

Mùa hạ và mùa thu, hái quả nhãn đã chín, đem phơi nắng to hoặc sấy nhẹ ở nhiệt độ từ 40 °C đến 50 °C đến khi lác quả có tiếng kêu lóc cóc, bóc bỏ vỏ cứng và hạt, lấy cùi đã nhãn vàng sấy ở 50 °C đến 60 °C đến khi sờ không dính tay (độ ẩm dược liệu dưới 15,0 %) thì bỏ ra. Chú ý giữ vệ sinh khi bóc cùi và khi sấy, phơi. Chùm quả trước khi phơi hoặc sấy có thể nhúng nước sôi từ 1 phút đến 2 phút.

Bảo quản

Đóng gói trong các thùng, hòm kín, có lót thêm chất chống ẩm. Để nơi khô, mát, thoáng, tránh mốc, mọt, đề phòng dược liệu bị ẩm ướt, chua và biến màu.

Tính vị, quy kinh

Cam, ôn. Vào các kinh tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị

Bổ ích tâm tỳ, dưỡng huyết, an thần. Chủ trị: Khí huyết bất túc, hồi hộp, tim đập mạnh, hay quên, mất ngủ, huyết hư.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người ở trong có đờm hỏa, thấp trệ, đờm ẩm.

LÔ HỘI (Nhựa)**Aloe**

Chất dịch đã cô đặc và sấy khô, lấy từ lá cây Lô hội (chủ yếu từ *Aloe vera* L. và *Aloe ferox* Mill.), họ Lô hội (Asphodelaceae).

Mô tả

Khối nhựa có kích thước không đồng đều, màu nâu đen bóng, dễ vỡ vụn, chỗ vỡ óng ánh như thủy tinh. Mùi hơi khó chịu, vị đắng nồng.

Định tính

A. Lấy 0,5 g bột dược liệu cho vào bình nón 250 ml, thêm 50 ml nước, lắc kỹ trong 5 phút. Lọc (dung dịch A).

Lấy 5 ml dung dịch A cho vào ống nghiệm và thêm 0,2 g *dinatri tetraborat* (TT), đun nóng đến tan. Lấy 1 ml dịch trong ống nghiệm pha loãng với 30 ml nước cất, lắc kỹ. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm sẽ có huỳnh quang màu vàng sáng xuất hiện.

Lấy 2 ml dung dịch A cho vào ống nghiệm, thêm 2 ml nước bão hòa brom (TT), xuất hiện tủa màu vàng.

B. Lấy 0,1 g bột dược liệu cho vào bình nón dung tích 100 ml. Thêm 5 ml dung dịch sắt (III) clorid 3 % (TT) và 5 ml dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT). Lắc đều rồi đun trên cách thủy 10 phút, để nguội, thêm 15 ml ether ethylic (TT), lắc kỹ trong 1 phút. Gạn lấy lớp ether và lắc dịch chiết ether với 5 ml dung dịch amoniac 10 % (TT). Lớp amoniac có màu hồng tím.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Nước - ethyl acetat - methanol (13 : 100 : 17).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 20 ml methanol (TT), đun sôi trong cách thủy. Lắc trong vài phút, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 25 mg barbaloin chuẩn, hòa tan trong methanol (TT) và pha loãng đến 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Khai triển sắc ký khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Phun dung dịch kali hydroxyd 10 % trong methanol (TT). Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải không có vết có huỳnh quang màu tím, phải cho vết có huỳnh quang và giá trị R_f tương ứng với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1,000 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,4 g bột dược liệu đã qua rây có kích thước mắt rây 0,18 mm vào một bình nón dung tích 250 ml. Làm ẩm dược liệu với 2 ml methanol (TT) và thêm 5 ml nước cất đã đun nóng 60 °C, lắc đều. Thêm 75 ml nước và đun trong cách thủy 60 °C trong 30 phút, thỉnh thoảng lắc. Để nguội, lọc vào bình định mức có dung tích 1000 ml, tráng bình nón và rửa giấy lọc với 20 ml nước và hứng vào bình định mức trên. Thêm nước tới vạch. Trộn đều. Lấy chính xác 10 ml dịch chiết trên cho vào một bình cầu có dung tích 100 ml. Thêm 1 ml dung dịch sắt (III) clorid 60 % (TT) và 6 ml acid hydrocloric (TT). Đun hồi lưu trong cách thủy 4 giờ. Để nguội, rồi chuyển toàn bộ dung dịch vào một bình gạn, rửa bình cầu lần lượt bằng 4 ml nước, 4 ml dung dịch natri hydroxyd 1 N (TT) và 4 ml nước. Gộp tất cả dịch các lần rửa vào bình gạn trên. Chiết hỗn hợp trên với ether ethylic (TT) ba lần, mỗi lần 20 ml. Gộp tất cả dịch chiết ether vào một bình gạn khác và rửa 2 lần với nước, mỗi lần 10 ml. Gạn lớp ether vào một bình định mức có dung tích 100 ml. Thêm ether ethylic (TT) tới vạch. Lấy chính xác 20 ml dung dịch ether ethylic cho bốc hơi tới gần trên cách thủy. Hòa tan cân bằng 10 ml dung dịch magnesi acetat 0,5 % trong methanol (TT). Đo độ hấp thụ ở bước sóng 512 nm (Phụ lục 4.1), dùng methanol (TT) làm mẫu trắng. Hàm lượng dẫn chất hydroxyanthracen tính theo barbaloin được tính theo công thức sau:

$$X \% = \frac{(A \times 19,6)}{m}$$

Trong đó:

A là độ hấp thụ đo được ở bước sóng 512 nm;

m là lượng bột dược liệu đã trừ độ ẩm (g);

X là hàm lượng dẫn chất hydroxyanthracen tính theo barbaloin.

Nhựa của loài *Aloe* có hàm lượng dẫn chất hydroxyanthracen không dưới 18 % tính theo barbaloin ($C_{21}H_{22}O_9$) đối với dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Cắt lá cây, ép lấy chất dịch ở trong, đem cô khô.

Bảo quản

Đề nơi khô mát, trong lọ kín.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn. Vào các kinh can, vị, đại trường.

Công năng, chủ trị

Thanh can nhiệt, thông tiện. Chủ trị: Can có thực nhiệt, đại tiện bí, tiểu nhi cam tích kinh phong, can nhiệt, bế kinh, làm giảm độc ba đậu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 0,06 g đến 0,20 g. Dùng để tẩy, mỗi lần từ 1 g đến 2 g. Dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán.

Kiêng kỵ

Tỳ vị suy yếu, đang ỉa lỏng hoặc phụ nữ có thai không dùng.

LỘC NHUNG

Cornu Cervi Pantotrichum

Nhung hươu

Sừng non có lông nhung và chưa bị xương hóa của Hươu sao đực (*Cervus nippon* Temminck), họ Hươu (Cervidae).

Mô tả

Nhung hươu sao (còn gọi là Hoa lộc nhung): Có hình trụ, phân nhánh. Loại có 1 nhánh phụ thường được gọi là “nhánh đôi”, nhánh chính (nhánh lớn) dài khoảng 17 cm đến 20 cm, đường kính mặt cắt ngang từ 4 cm đến 5 cm; nhánh mọc ra cao hơn mặt cắt khoảng 1 cm được gọi là “nhánh phụ” dài từ 9 cm đến 15 cm, đường kính hơi nhỏ hơn nhánh chính. Lớp da mặt ngoài có màu nâu đỏ hoặc màu nâu, thường bóng, được phủ một lớp lông dày, mềm, có màu vàng đỏ hoặc vàng nâu, phần đầu trên lông dày hơn phần phía dưới, có một gân màu đen xám ở để giữa nhánh chính và nhánh phụ, da và lông dính sát vào nhau. Mặt cắt có màu trắng hơi vàng, phía ngoài không có xương, phần giữa có nhiều lỗ nhỏ dày đặc. Thở chất nhẹ. Có mùi hơi tanh, vị hơi mặn.

Loại sừng có 2 nhánh phụ thường được gọi là “nhánh ba”, nhánh chính dài 23 cm đến 33 cm và có đường kính nhỏ hơn nhánh chính của loại nhánh đôi, hình hơi cong và dẹt, đỉnh hơi nhọn, phần dưới thường có các gân dọc nổi và các u lồi lên. Da có màu vàng hơi đỏ, lông mềm hơi thưa và mượt.

Lộc nhung vào mùa thu cũng tương tự như mùa hè, nhưng nhánh lớn dài hơn và không tròn hoặc phần dưới dày hơn phần trên và có nhiều gân dọc. Da màu vàng xám, lông mềm tương đối thô. Phần ngoài của mặt cắt thường bị xương hóa. Thở chất tương đối nặng. Không có mùi tanh.

Định tính

A. Lấy khoảng 0,1 g bột dược liệu, thêm 4 ml nước, đun nóng 15 phút, để nguội, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 3 giọt thuốc thử ninhydrin (TT), trộn đều, đun sôi vài phút, màu tím hơi xanh xuất hiện. Lấy 1 ml dịch lọc khác, thêm 2 giọt dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT), trộn đều, thêm từng giọt dung dịch đồng sulfat 0,5 % (TT), xuất hiện màu tím hơi xanh.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G, dùng dung dịch natri carboxymethylcellulose 0,2 % đến 0,5 % để tráng bản mỏng.

Dung môi khai triển: *n*-Butanol - acid acetic băng - nước (3 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,4 g bột dược liệu, thêm 5 ml ethanol 70 % (TT), lắc siêu âm 15 phút, lọc, dịch lọc để chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,4 g bột Lộc nhung (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử được dung

dịch đối chiếu Lộc nhung. Hòa tan glycine chuẩn trong ethanol 70 % (TT) để được dung dịch có nồng độ 2 mg/ml làm dung dịch đối chiếu glycine.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 8 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu Lộc nhung và 1 µl dung dịch đối chiếu glycine, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch ninhydrin 2 % trong acetone (TT), sấy ở 105 °C cho đến khi hiện rõ vết.

Trên sắc ký đồ của dung dịch mẫu thử phải có vết cùng màu, cùng R_f với vết trên sắc ký đồ mẫu đối chiếu lộc nhung và mẫu đối chiếu glycine.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân, cưa lấy Lộc nhung, cưa xong khâu mép mặt cắt lại, treo trên bếp than hồng, vẩy nước nóng vừa phải, quay trở luôn, để khô dần, nhưng sẽ không bị nứt. Sấy liên tục 3 đến 4 ngày đêm đến khi khô hẳn, cũng có thể sấy nhưng đến khô dẻo, lấy dao sắc thái ra từng miếng, tiếp tục sao nhỏ lửa cho khô hẳn.

Bào chế

Lộc nhung phiến: Lấy lộc nhung khô, đốt cháy hết lông, cạo sạch, lấy băng vải cuốn quanh thân nhung. Đổ rượu trắng đã đun nóng vào các lỗ nhỏ mặt miệng nhung đã cưa đến khi nhung mềm hoặc tẩm rượu rồi đồ cho mềm, đem thái ngang thành lát tròn, mỏng, ép phẳng, sấy khô.

Bột lộc nhung: Lấy Lộc nhung hươu, đốt bỏ lông, cạo sạch, cắt thành mảnh nhỏ, nghiền thành bột mịn.

Bảo quản

Để nơi khô, trong bao bì kín, có kèm chất hút ẩm, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn, ôn. Vào các kinh thận, can.

Công năng, chủ trị

Bổ thận dương, ích tinh huyết, mạnh gân cốt, trừ nhọt độc. Chủ trị: Liệt dương, hoạt tinh, tử cung lạnh, khó thụ thai, tinh thần mệt mỏi, sợ lạnh, chóng mặt, tai ù, tai điếc (cơ năng), trẻ chậm liền thóp, lưng gối đau lạnh, gân xương mềm yếu, rong huyết, nhọt lâu ngày không liền miệng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 1 g đến 2 g, tán bột hòa vào nước thuốc uống. Đầu tiên uống liều nhỏ rồi sau đó tăng dần, không nên uống ngay liều lớn.

Kiêng kỵ

Thực nhiệt âm hư dương thịnh không nên dùng.

LÚC (Lá)*Folium Pluchae pteropodae***Sài hồ nam**

Lá phơi hay sấy khô của cây Lúc (*Pluchea pteropoda* Hemsl.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Lá mọc so le, hình bầu dục hay hình trứng ngược, đầu như không cuống, dài 3 cm đến 4 cm, rộng 1 cm đến 2 cm, mép có răng cưa, phiến lá dày, láng ở mặt trên, mặt dưới xanh nhạt hơn mặt trên, vỏ có mùi thơm.

Vi phẫu

Gân lá hai mặt lõm. Phần gân chính gồm có biểu bì trên và biểu bì dưới, kế tiếp là lớp mô dày góc. Libe-gỗ xếp thành 4 bó hình vòng cung. Mỗi bó có 1 vòng mô cứng bao bên ngoài. Bó libe-gỗ có cấu tạo gồm gỗ ở trên, libe ở giữa, đám mô cứng ở dưới và bao quanh bó libe-gỗ. Lớp mô mềm giậu có ở dưới biểu bì trên và biểu bì dưới của lá.

Bột

Bột có màu xanh lục đậm, mùi thơm, vị chua hơi mặn. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì mang lỗ khí. Lông che chở đa bào một dãy gồm 3 đến 5 tế bào cong queo. Mảnh mạch vạch, mạch điểm.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Thân còn sót lại: Không quá 2,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 3,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hái quanh năm. Cắt các cành mang lá non về rửa sạch, dùng tươi hoặc cắt đoạn phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Khô, vị hàn. Vào các kinh can, đờm.

Công năng, chủ trị

Phát tán phong nhiệt, giải uất. Chủ trị: Ngoại cảm phong nhiệt phát sốt, hơi rét, nhức đầu, khát nước, tức ngực, khó chịu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 20 g, dạng thuốc sắc hay hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Hư hỏa không nên dùng.

LÚC (Rễ)*Radix Pluchae pteropodae***Hải sài**

Rễ phơi hay sấy khô của cây Lúc (*Pluchea pteropoda* Hemsl.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Rễ nguyên hay đã chặt thành đoạn, đường kính 0,5 cm đến 2 cm, dài 1 cm đến 3 cm (nếu còn nguyên có thể dài đến 20 cm). Vỏ ngoài màu nâu xám, có nhiều nếp nhăn dọc và có vết tích của rễ con hay đoạn rễ con còn sót lại. Mặt cắt ngang có màu trắng đến trắng ngà. Chất giòn, dễ bẻ gãy.

Vi phẫu

Lớp vỏ tương đối mỏng, tế bào xếp khá đều đặn. Mô mềm vỏ gồm tế bào hình nhiều cạnh, rải rác có nhiều chất tiết. Trụ bì hóa mô cứng nằm rải rác sát nội bì. Nội bì rõ. Libe cấp 1 thường nằm tương ứng với đám mô cứng. Libe cấp 2 khá liên tục nhưng không nhìn rõ được tế bào. Tầng phát sinh libe-gỗ khá liên tục. Gỗ cấp 2 gồm mạch gỗ to và mô mềm gỗ chiếm tâm, có những tia ruột chạy qua vùng gỗ và loe rộng ra ở vùng libe.

Soi bột

Bột có màu vàng nâu nhạt, mùi thơm, vị nhạt. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bản gồm các tế bào xếp đồng tâm và xuyên tâm khá đều đặn, đôi khi không đều. Mảnh mô mềm có chứa ống tiết (đôi khi còn chất tiết). Tế bào mô cứng có thành mỏng thường tập trung thành đám. Mảnh mạch điểm rất nhiều, mạch mạng.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Thân còn sót lại: không quá 2,0 %.

Tạp chất khác: không quá 1,0 %.

Chế biến

Đào lấy rễ, bỏ rễ con, rửa sạch đất cát, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Khô, vị hàn. Vào các kinh can, đờm.

Công năng, chủ trị

Phát tán phong nhiệt, giải uất. Chủ trị: Ngoại cảm phong nhiệt phát sốt, hơi rét, nhức đầu, khát nước, tức ngực, khó chịu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 20 g, dạng thuốc sắc hay hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Hư hỏa không nên dùng.

MA HOÀNG***Herba Ephedrae***

Bộ phận trên mặt đất đã phơi hoặc sấy khô của cây Thảo ma hoàng (*Ephedra sinica* Staff.), Mộc tặc ma hoàng (*Ephedra equisetina* Bunge.), Trung gian ma hoàng (*Ephedra intermedia* Schrenk. et C. A. Meyer); họ Ma hoàng (Ephedraceae).

Mô tả

Thảo ma hoàng: Là những nhánh hình trụ tròn, đường kính 1 mm đến 2 mm, ít phân nhánh. Mặt ngoài màu xanh lá cây nhạt đến xanh vàng, có nhiều rãnh dọc, hơi ráp tay. Thân chia thành nhiều đốt và dóng rõ, mỗi dóng dài 2,5 cm đến 3 cm; lá hình vẩy nhỏ, dài 3 mm đến 4 mm, mọc đối ít khi mọc vòng, phía trên đầu lá nhọn và cong. Thê chất giòn, dễ gãy, vết bẻ có xơ, ruột có màu nâu đỏ. Mùi thơm nhẹ. Vị hơi đắng, chát.

Mộc tặc ma hoàng: Thân có đường kính 1 mm đến 1,5 mm, không ráp tay, thường phân nhánh nhiều. Dóng dài 1 cm đến 3 cm. Lá là những vẩy hình tam giác, dài 1 mm đến 2 mm, màu trắng xám, đầu lá không cuộn lại; ruột có màu đỏ nâu đến nâu đen.

Trung gian ma hoàng: Đường kính 1,5 mm đến 3 mm, thường phân nhánh, ráp tay, dóng dài 2 cm đến 6 cm. Lá là vẩy dài 2 mm đến 3 mm, thường mọc vòng, đầu lá nhọn.

Vì phẫu

Thảo Ma hoàng: Biểu bì ngoài ngoằn ngoèo, có lớp cutin dày, lỗ khí thường ở những chỗ lõm. Tại các góc lồi nằm sát biểu bì có những bó sợi thành rất dày không hóa gỗ. Vùng mô mềm vỏ khá rộng, có những bó sợi nhỏ nằm rải rác. Trụ bì có hình uốn khúc và ở dưới những góc lồi có những bó sợi. Vòng libe-gỗ gồm 8 đến 15 bó, libe ở phía ngoài, gỗ ở phía trong (mạch gỗ chưa phân hóa). Mô mềm ruột chứa những khối có màu nằm rải rác, đôi khi có những đám sợi.

Mộc tặc ma hoàng: Có 8 đến 10 bó sợi ở vùng trụ bì. Tầng sinh libe-gỗ là một vòng liên tục. Không có sợi trong ruột.

Trung gian ma hoàng: Có 12 đến 15 bó sợi nằm ở vùng trụ bì. Tầng sinh libe-gỗ có dạng tam giác. Sợi trong mô mềm ruột nằm rải rác, riêng lẻ hay thành bó.

Bột

Màu vàng xanh hay vàng nâu vị hơi đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì thân mang lỗ khí, lớp cutin có u lồi. Sợi dài có vách dày nằm riêng lẻ hay chụm thành bó. Mảnh mô mềm gồm có những tế bào hình chữ nhật, thành mỏng. Mảnh mang màu nâu, nâu đen. Mảnh mạch vạch có kích thước nhỏ.

Định tính

A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 5 ml nước và vài giọt dung dịch acid hydrocloric 5 % (TT), đun sôi 2 đến 3 phút. Lọc. Chuyển dịch lọc vào một bình gan, thêm

vài giọt amoni hydroxyd đậm đặc (TT) để kiềm hóa, rồi chiết với 5 ml cloroform (TT). Gạn dịch cloroform vào hai ống nghiệm.

Ống 1: Thêm dung dịch đồng (II) clorid (TT) và carbon disulfid (TT), mỗi loại 5 giọt, lắc đều và để yên, lớp cloroform có màu vàng đậm.

Ống 2: Dùng để làm ống kiểm chứng, thêm 5 giọt cloroform (TT) thay cho carbon disulfid, lắc đều và để yên, lớp cloroform không có màu hay có màu vàng rất nhạt.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoni hydroxyd đậm đặc (20 : 5 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng vài giọt amoniac đậm đặc (TT), thêm 10 ml cloroform (TT), đun hồi lưu 1 giờ, lọc. Bốc hơi dịch lọc tới cạn, thêm 2 ml methanol (TT) vào cạn rồi khuấy đều. Lọc, được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan một lượng ephedrin chuẩn trong methanol (TT) để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký xong, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch ninhydrin (TT) và sấy ở 105 °C khoảng 5 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết ephedrin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tỷ lệ vụn nát

Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu cho vào bình Soxhlet, thêm 3 ml amoni hydroxyd đậm đặc (TT), 10 ml ethanol (TT) và 20 ml ether (TT). Để yên 24 giờ, thêm ether (TT) và đun hồi lưu trên cách thủy trong 4 giờ cho đến khi hết alcaloid. Chuyển dịch chiết vào một bình gan, rửa bình chiết bằng một lượng nhỏ ether (TT). Lắc dịch chiết với dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT) lần đầu 20 ml, sau đó lắc tiếp 4 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết acid lại, kiềm hóa bằng dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT), bão hòa bằng natri clorid (TT), lắc với ether (TT) lần đầu

20 ml và 4 lần tiếp theo mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch ether lại, rửa 3 lần mỗi lần 5 ml *dung dịch natri clorid bão hòa (TT)*. Gộp các nước rửa lại và lắc với 10 ml ether (TT). Gộp các dịch ether lại, thêm chính xác 30 ml *dung dịch acid sulfuric 0,01 M (CĐ)*, lắc đều, để yên lớp acid trong bình gạn cho phân lớp; lấy riêng lớp acid cho vào bình nón 250 ml, dịch ether được rửa 3 lần, mỗi lần với 5 ml nước. Gộp nước rửa vào bình nón đựng acid trên, đun cách thủy đuổi hết ether và để nguội, chuẩn độ acid thừa bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 M (CĐ)*, dùng 2 giọt *đỏ methyl (TT)* làm chất chỉ thị màu. 1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,01 M (TT)* tương đương với 3,305 mg ephedrin ($C_{10}H_{15}NO$). Dược liệu phải chứa không dưới 0,8 % alcaloid toàn phần tính theo ephedrin $C_{10}H_{15}NO$.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, khi thân còn hơi xanh, cắt về, phơi khô, bó lại thành từng bó.

Bào chế

Ma hoàng: Bỏ phần gốc thân hóa gỗ, rễ còn sót và tạp chất, cắt đoạn, phơi khô.

Mật ma hoàng: Lấy Ma hoàng, thêm mật ong và ít nước sôi, tẩm đều, ủ một lúc rồi sao nhỏ lửa cho đến khi sờ không dính tay, lấy ra để nguội. Cứ 100 kg Ma hoàng dùng 20 kg mật ong.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, tránh ẩm.

Tính vị quy kinh

Tân, vị khô, ôn. Vào các kinh phế, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Phát hãn giải biểu hàn, chỉ ho, bình suyễn, lợi thủy.

Chủ trị: Cảm mạo phong hàn, dương thủy; ngực tức, ho suyễn, hen phế quản, phù thũng.

Ma hoàng thích mật: Nhuận phế giảm ho; thường dùng trong trường hợp biểu chứng đã giải song vẫn còn ho suyễn.

Sinh ma hoàng: Phát hãn giải biểu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Dương hư tự ra mồ hôi, không nên dùng.

MÃ ĐỀ (Hạt)

Semen Plantaginis

Xa tiền tử

Hạt đã phơi hay sấy khô của cây Mã đề (*Plantago major* L.), họ Mã đề (*Plantaginaceae*).

Mô tả

Hạt rất nhỏ, hình bầu dục, hơi dẹt, dài rộng khoảng 1 mm. Mặt ngoài màu nâu hay tím đen. Nhìn gần thấy trên mặt hạt có chấm nhỏ màu trắng khá rõ. Nhìn qua kính lúp thấy những vân lằn tăn trên bề mặt hạt. Rón hạt lồm.

Bột

Bột màu nâu xám, có chất nhầy. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh vỏ ngoài gồm những tế bào đa giác hoặc hình chữ nhật, thành tương đối dày, chứa chất dự trữ màu vàng xám. Mảnh nội nhũ gồm những tế bào hình đa giác thành rất dày và trong suốt, giữa tế bào có chất dự trữ lớn nhón màu vàng nâu. Nhiều giọt dầu. Hạt tinh bột tròn và nhiều cạnh.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Hạt lép: Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Chỉ số trương nở

Không ít hơn 5 (Phụ lục 12.19).

Chế biến

Hái quả già, giữ lấy hạt, phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, mát.

Bào chế

Lấy hạt Mã đề sạch, sao cho đến khi nở giòn, phun dung dịch muối ăn và sao khô. Dùng 2 kg muối ăn cho 100 kg dược liệu, thêm nước vừa đủ để thấm ẩm dược liệu.

Dược liệu sau khi chế có mặt ngoài màu nâu tối hoặc nâu vàng, mùi hơi thơm, vị mặn.

Tính vị, quy kinh

Cam, lương. Vào các kinh can, phế, thận, tiểu trường, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Thanh thấp nhiệt, trừ đờm, chỉ ho, lợi tiểu, thông lâm, chỉ huyết. Chủ trị: Ho nhiều đờm, viêm phế quản, viêm thận, bàng quang, sỏi tiết niệu, tiểu tiện ra máu, chảy máu cam.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 16 g đến 20 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai dùng thận trọng.

MÃ ĐỀ (Lá)***Folium Plantaginis***

Lá đã phơi hay sấy khô của cây Mã đề (*Plantago major* L.), họ Mã đề (Plantaginaceae).

Mô tả

Lá nhẵn nhéo, nhàu nát, giống như cái thìa, đỉnh tù, đáy thuôn hẹp, dài 7 cm đến 10 cm, rộng 5 cm đến 7 cm. Mặt trên lá màu lục sẫm, mặt dưới màu lục nhạt. Phiến lá dày, nhẵn. Mép nguyên có 3 đến 5 gân hình cung, lồi nhiều về phía mặt dưới lá. Cuống dài 5 cm đến 10 cm, rộng ra về phía gốc.

Vi phẫu

Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào hình gần vuông, xếp đều đặn có chứa lỗ khí và lông tiết. Lớp mô dày góc dưới gân lá xếp sát biểu bì, gồm những tế bào hình nhiều cạnh. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn hoặc nhiều cạnh, thành mỏng và hơi uốn lượn, có khoảng gian bào hình nhiều cạnh. Bó libe-gỗ hình tròn xếp giữa gân lá gồm: vòng nội bì bao bọc xung quanh, cung libe xếp sát cung mô dày dưới, gỗ ở trên libe, mạch gỗ xếp nối nhau thành dãy thẳng hàng.

Bột

Màu xám nâu nhạt, vị hơi chát, hơi đắng, hơi mặn. Soi kính hiển vi thấy mảnh biểu bì trên và dưới gồm tế bào thành mỏng ngoằn ngoèo mang lỗ khí và lông tiết. Lỗ khí có tế bào bạn hình dạng thay đổi, biểu bì trên có nhiều hơn biểu bì dưới. Lông tiết có đầu 2 tế bào, chân đa bào dính trên tế bào tròn, thành mỏng, xung quanh có nhiều đường vân tỏa ra, có khi lông đã rụng để lại vết tích của chân lông. Mảnh cuống lá gồm tế bào hình nhiều cạnh mang lông tiết đầu 2 tế bào. Mảnh mạch.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, tiến hành vi thăng hoa, soi kính hiển vi thấy có tinh thể hình kim.

B. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 5 ml nước, đun sôi 1 phút rồi để nguội, lọc. Lấy 1 giọt dịch lọc nhỏ lên phiến kính, hơi nhẹ trên đèn cồn cho khô, đem soi kính hiển vi thấy có tinh thể hình vuông và hình chữ nhật.

C. Dưới ánh sáng tử ngoại, bột dược liệu phát quang màu nâu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Hái lá lúc cây sắp ra hoa hay đang ra hoa, rửa sạch, phơi hay sấy khô ở 40 °C đến 50 °C.

Bảo quản

Để nơi khô mát.

Tính vị, qui kinh

Cam, hàn. Vào các kinh can, phế, thận, tiểu trường, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt trừ đờm, lợi tiểu thông lâm, chỉ huyết. Dùng trị ho viêm amidan, viêm phế quản; viêm thận, viêm bàng quang, bí tiểu tiện; chảy máu cam, nôn ra máu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 16 g đến 20 g, dạng thuốc sắc, cao thuốc. Dùng ngoài để chữa bỏng (lấy bông nhúng vào cao thuốc đắp lên chỗ bỏng, băng lại, mỗi ngày thay một lần).

Kiểm kỵ

Phụ nữ có thai dùng phải thận trọng. Người già thận kém, đái đêm nhiều không nên dùng.

MÃ TIỀN (Hạt)***Semen Strychni***

Hạt đã phơi hay sấy khô lấy từ quả chín của cây Mã tiền (*Strychnos nux-vomica* L.) hoặc một số loài thuộc chi *Strychnos* khác có chứa strychnin, họ Mã tiền (Loganiaceae).

Mô tả

Loài *Strychnos nux-vomica* L.: Hạt hình đĩa dẹt, hơi dày lên ở mép; một số hạt hơi méo mó, cong không đều, đường kính 1,2 cm đến 2,5 cm, dày 0,4 cm đến 0,6 cm, màu xám nhạt đến vàng nhạt. Mặt hạt phủ một lớp lông tơ bóng mượt mọc ngả theo chiều từ tâm hạt tỏa ra xung quanh. Rốn hạt là một lỗ chồi nhỏ ở giữa một mặt hạt. Sóng noãn hơi lồi chạy từ rốn hạt đến lỗ noãn (là một điểm nhỏ cao lên ở trên mép hạt). Hạt có nội nhũ sừng màu vàng nhạt hay hơi xám, rất cứng. Cây mầm nhỏ nằm trong khoảng giữa nội nhũ phía lỗ noãn. Hạt không mùi, vị rất đắng.

Vi phẫu

Vỏ hạt có các tế bào biến đổi thành lông che chở đơn bào, thon dài, ngả theo chiều từ tâm hạt ra ngoài, gốc lông phình to. Lớp tế bào mô cứng dẹt, thành rất dày. Nội nhũ gồm những tế bào hình nhiều cạnh.

Bột

Rất nhiều lông che chở đơn bào dài và mảnh, thường bị gãy thành nhiều đoạn. Mảnh gốc lông phình to, thành dày. Mảnh tế bào mô cứng có ống trao đổi rõ. Mảnh nội nhũ gồm những tế bào hình nhiều cạnh thành dày, một vài tế bào chứa dầu và hạt aleuron.

Định tính

A. Trên mặt cắt ngang của dược liệu, nhỏ 1 giọt *acid nitric* (TT), mặt cắt sẽ nhuộm màu đỏ cam. Trên mặt cắt khác, nhỏ một giọt *dung dịch amoni vanadat 1 % trong acid sulfuric* (TT), mặt cắt sẽ có màu tím.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluene - acetone - ethanol - amoniac đậm đặc (4 : 5 : 0,6 : 0,4).

Dung dịch thử: Cho 0,5 g bột dược liệu vào bình nón nút mài, thêm 5 ml hỗn hợp *cloroform - ethanol* (10 : 1) và 0,5 ml *amoniac đậm đặc* (TT), đậy nắp và lắc trong 5 phút, để yên trong 1 giờ, thỉnh thoảng lắc đều. Lọc, được *dung dịch thử*.

Dung dịch đối chiếu: *Dung dịch strychnin và brucin* chuẩn có nồng độ 2 mg/ml trong *cloroform* (TT).

Cách tiến hành: Chấm lên bản mỏng 10 µl mỗi *dung dịch* trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun thuốc thử *Dragendorff* (TT). Trên sắc ký đồ, vết của *dung dịch mẫu thử* phải có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của *dung dịch đối chiếu*.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 3,5 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Hạt lép và đen: Không quá 3,5 %.

Các tạp chất khác: Không quá 0,2 %.

Định lượng

Cân chính xác 0,4 g bột dược liệu (qua rây có số 355) vào bình nón nút mài 100 ml. Thêm chính xác 20 ml *cloroform* (TT) và 0,3 ml *amoniac đậm đặc* (TT). Đậy kín bình và cân. Đun hồi lưu trên cách thủy trong 3 giờ, hoặc để 45 phút trong bể siêu âm (350 W, 35 kHz). Cân bổ sung lượng *cloroform* hao hụt. Lắc đều, lọc nhanh vào bình nón. Lấy chính xác 10 ml dịch lọc cho vào bình gạn 50 ml. Chiết 4 lần mỗi lần 10 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M* (TT). Lọc dịch acid qua giấy lọc đã thấm ướt trước bằng *dung dịch acid sulfuric 0,5 M* (TT) vào một bình định mức 50 ml. Rửa giấy lọc bằng một lượng nhỏ *dung dịch acid sulfuric 0,5 M* (TT), gộp dịch rửa vào bình định mức và thêm cùng *dung môi* cho tới vạch, lắc kỹ. Hút chính xác 10 ml *dung dịch* này cho vào bình định mức 50 ml pha loãng vừa đủ bằng *dung dịch acid sulfuric 0,5 M* (TT), lắc đều. Đo độ hấp thụ của *dung dịch* ở bước sóng 262 nm và 300 nm (Phụ lục 4.1). Cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là *dung dịch acid sulfuric 0,5 M* (TT).

Hàm lượng strychnin được tính theo công thức:

$$\% \text{ strychnin} = \frac{5(0,321a - 0,467b)}{m \times (1 - X)}$$

Trong đó:

a là độ hấp thụ ở 262 nm;

b là độ hấp thụ ở 300 nm;

m là khối lượng mẫu thử (g);

X là độ ẩm của dược liệu (g).

Hàm lượng strychnin ($C_{21}H_{22}N_2O_2$) không ít hơn 1,2 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, tránh mốc mọt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa đông, hái những quả già, bỏ ra lấy hạt, loại bỏ cơm quả, hạt lép, non, phơi nắng hay sấy ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C đến khô.

Bào chế

Lấy hạt mã tiền sạch, sao với cát sạch cho phồng đến khi có màu nâu thẫm hoặc màu hạt dẻ sẫm. Khi ngoài vỏ có đường tách nẻ, thì đổ hạt và cát ra; rây bỏ hết cát, cho hạt vào máy rây cho sạch lông nhưng đã bị cháy.

Hạt Mã tiền tẩm dầu vừng: Cho hạt Mã tiền sạch vào nước hoặc nước vo gạo, ngâm một ngày đêm; hay cho hạt Mã tiền vào nước đun sôi, lấy ra, lại ngâm nước rồi lại lấy ra vài lần như vậy cho đến khi thấy mềm. Lấy hạt, cạo bỏ vỏ hạt, bỏ cây mầm thái mỏng, sấy khô tẩm dầu vừng (mè) một đêm; lấy ra sao đen màu vàng, để nguội cho vào lọ đậy kín.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn, có đại độc. Vào các kinh can, tỳ.

Công năng, chủ trị

Thông kinh hoạt lạc giảm đau, mạnh gân cốt, tán kết tiêu sưng. Chủ trị: Phong thấp, tê, bại liệt; đau khớp dạng phong thấp, nhức mỏi chân tay, đau dây thần kinh, sưng đau do sang chấn, nhọt độc sưng đau.

Cách dùng, liều lượng

Dùng Mã tiền chế.

Người lớn 0,05 g/ lần, 3 lần trong 24 giờ, liều tối đa 0,10 g/ lần, 3 lần trong 24 giờ. Trẻ em từ 2 tuổi trở xuống không được dùng. Trẻ em từ 3 tuổi trở lên, dùng 0,005 g cho mỗi tuổi. Dùng dưới dạng thuốc sắc hay thuốc bột. Không dùng quá liều quy định.

Dùng quá liều có thể ngộ độc: Chân tay máy động, kinh giật khó thở, nặng thì có thể hôn mê.

Kiêng kỵ

Không dùng cho phụ nữ có thai, cho con bú.

MẠCH MÔN (Rễ)***Radix Ophiopogonis japonici***

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Mạch môn đông [*Ophiopogon japonicus* (L.f.) Ker-Gawl], họ Mạch môn đông (Convallariaceae).

Mô tả

Rễ hình thoi, ở mỗi đầu còn vết tích của rễ con, dài 1,5 cm đến 3,5 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,8 cm, để nguyên hay bổ đôi theo chiều dọc. Mặt ngoài có màu vàng nâu và nhiều nếp nhăn dọc. Mặt cắt ngang có lớp vỏ mỏng màu nâu nhạt, phần ruột trắng ngà, có lõi nhỏ ở chính giữa. Mùi thơm nhẹ, vị hơi ngọt sau đó hơi đắng.

Vĩ phẫu

Lớp bản mỏng cấu tạo bởi những tế bào có thành dày, có những chỗ bị rách bong ra. Hạ bì gồm vài lớp tế bào nhỏ thành hơi dày. Vùng mô mềm vỏ rộng gấp 3 đến 4 lần vùng mô mềm tủy. Các tế bào mô mềm có thành mỏng, có hình tròn hay nhiều cạnh ở phần ngoài, tế bào kéo dài theo hướng xuyên tâm ở phần trong; rải rác có tinh thể calci oxalat hình kim đôi khi là hình cầu gai. Tế bào nội bì có thành dày ở phía trong và hai bên như hình chữ U. Trụ bì gồm 1 lớp tế bào có thành mỏng. Các bó gỗ cấp 1 xếp thành dãy, mạch lớn phía trong và mạch nhỏ phía ngoài xếp xen kẽ với bó libe cấp 1. Vùng mô mềm ruột hẹp gồm các tế bào có thành mỏng, kích thước nhỏ hơn tế bào mô mềm vỏ, rải rác có tế bào chứa bó tinh thể calci oxalat hình kim thường nhỏ hơn các tế bào xung quanh.

Bột

Mảnh bản gồm những tế bào nhiều cạnh có thành dày. Mạch mô mềm gồm tế bào có thành mỏng, hình tròn hoặc nhiều cạnh, có chứa tinh thể calci oxalat hình kim dài 40 µm đến 70 µm, rộng 2 µm đến 4 µm, đứng riêng rẽ hay xếp thành từng bó. Tế bào mô cứng hình chữ nhật có thành dày, khoang rộng, có ống trao đổi rõ, thường xếp thành từng đám, có nhiều tinh bột.

Định tính

A. Quan sát mặt cắt ngang của dược liệu dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm thấy có phát quang màu xanh nhạt sáng, mạnh nhất ở vùng lõi và giảm dần ở vùng vỏ.

B. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml *ethanol* 70 % (TT), đun hồi lưu trên bếp cách thủy 15 phút, lọc. Lấy khoảng 1 ml dịch lọc pha loãng với *nước cất* thành 10 ml. Lắc mạnh 15 giây, có bọt bền.

C. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml *nước*, đun trong cách thủy 15 phút, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc thêm 1 ml *thuốc thử Fehling* (TT), đun sôi, có kết tủa đỏ gạch.

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 60,0% tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng 1,0 g dược liệu, thêm 40 ml *nước*, chiết 3 lần, mỗi lần 30 phút, gộp các dịch chiết, cô trong cách thủy đến cạn.

Độ ẩm

Không quá 18,0 % (Phụ lục 9.6, 1,0 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ. Đào lấy rễ củ, rửa sạch, phơi nắng, xếp đồng nhiều lần cho gần khô (khô khoảng 70 % đến 80 %), loại bỏ rễ tua, phơi hay sấy nhẹ đến khô. Trước khi dùng sao cách cát.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, đập dẹt, rút bỏ lõi, phơi khô.

Bảo quản

Đề nơi khô mát, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Cam, vị khổ, vị hàn. Vào các kinh tâm, phế, vị.

Công năng, chủ trị

Dưỡng vị sinh tân, nhuận phế thanh tâm. Chủ trị: Phế nhiệt do âm hư, ho khan, ho lao, tân dịch thương tổn, tâm phiền mất ngủ, tiêu khát, táo bón.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g. Dạng thuốc sắc.

Kiểm kỵ

Tỳ vị hư hàn, ăn uống chậm tiêu, ỉa chảy không nên dùng.

MẠCH NHA***Fructus Hordei germinatus***

Quả chín nảy mầm phơi khô của cây lúa Đại mạch (*Hordeum vulgare* L.), họ Lúa (Poaceae).

Mô tả

Mạch nha hình thoi dài 8 mm đến 12 mm, đường kính 3 mm đến 4 mm, mặt ngoài màu vàng nhạt, trên lưng có mây bao quanh với 5 đường gân và râu dài đã gãy rụng. Phía bụng được bao trong mây hoa, bóc bỏ vỏ ngoài thấy mặt bụng có một rãnh dọc, phần dưới mọc ra mầm non và rễ con, mầm non dài dạng mũi mác, dài 0,5 cm với vài sợi rễ nhỏ cong queo. Chất cứng, mặt bề gãy màu trắng có tinh bột. Không mùi, vị hơi ngọt.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng : *Silica gel G*, dùng dung dịch natri carboxymethylcellulose 0,2 % đến 0,5 % để tráng bản mỏng.

Dùng môi khai triển : *Benzen - cloroform* (1 : 1)

Dung dịch thử: Lấy 10 g bột dược liệu vào bình nón 100 ml, thêm 30 ml *ethanol* (TT), siêu âm trong 40 phút, lọc. Thêm vào dịch lọc 1,5 ml *dung dịch kali hydroxyd 50 %* (TT), đun hồi lưu trong cách thủy 15 phút, làm nguội bằng cách để trong cách thủy đá 5 phút. Chuyển vào một bình chiết, rửa bình nón 2 lần mỗi lần với 20 ml nước và gộp nước rửa vào bình chiết. Chiết với *ether dầu hòa* (60 °C đến 90 °C) (TT) 3 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết ether dầu hòa, bay hơi dịch chiết đến khô trên cách thủy ở 45 °C. Hòa tan cặn trong 1 ml *ethyl acetat* (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 10 g bột Mạch nha (mẫu chuẩn). Tiến hành chiết tương tự như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ngoài không khí. Phun *dung dịch acid nitric 15 % trong ethanol 50 %*. Sấy ở 100 °C đến khi xuất hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang có cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tỷ lệ mọc mầm

Lấy 10 g hạt lúa đại mạch (theo phương pháp lấy mẫu dược liệu, Phụ lục 12.1), chia làm 2 phần. Mỗi phần trải trên một nửa bề mặt phẳng, có đường ngăn chéo. Đếm số hạt mọc mầm trên tổng số hạt Đại mạch, tính ra tỷ lệ phần trăm số hạt mọc mầm. Tỷ lệ mọc mầm của dược liệu không được dưới 85 %.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Chế biến

Lấy hạt đại mạch đã nhặt sạch, ngâm nước 2 giờ đến 3 giờ. Vớt ra, bỏ vào rá, đập kín. Mỗi ngày vẩy nước 1 lần, giữ độ ẩm cho đến khi hạt lúa nứt mầm dài độ 0,5 cm, lấy ra phơi khô gọi là sinh mạch nha.

Bào chế

Mạch nha sao: Lấy sinh mạch nha sạch, rang nhỏ lửa, sao đến màu vàng nâu, lấy ra để nguội, sấy sạch bụi tro vụn là được.

Tiêu mạch nha: Lấy mạch nha sạch, cho vào nồi, đun to lửa, sao cho vàng sém, lấy ra để khô, sấy hết tro bụi.

Bảo quản

Đề nơi khô, mát, trong bao bì kín, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, bình. Vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Kiện tỳ tiêu thực, tiêu sưng thông sữa. Chủ trị: Thực tích bụng đầy trướng, ăn kém, tiêu hóa kém, làm mất

sữa hoặc vú sưng đau do sữa ứ lại, vú tức đau khi căng sữa.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g. Làm mất sữa: 60 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiểm kỵ

Phụ nữ có thai, hoặc đang thời kỳ cho con bú không nên dùng.

MAI MỰC

Os Sepiae

Ô tặc cốt

Mai rửa sạch phơi hay sấy khô của con Cá mực (*Sepia esculenta* Hoyle), họ Mực nang (Sepiidae).

Mô tả

Mai mực hình bầu dục dài 13 cm đến 23 cm, rộng 6,5 cm đến 8 cm và dẹt, mép mỏng, giữa dày 2 cm đến 4 cm. Lưng cứng, màu trắng hay trắng ngà, hai bên có rìa màu vàng đậm hơn. Trên mặt lưng có u hạt nổi lên, xếp thành những đường vân hình chữ U mờ. Mặt bụng màu trắng, xốp, có những đường vân ngang nhỏ, dày đặc, tựa như những làn sóng gợn, có 1 rãnh dọc nông ở giữa mặt bụng. Mép như sừng của phần đuôi mở rộng dần và uốn cong về phía bụng, tận cùng phần đuôi có gai như chất xương, thường bị gãy và rơi rụng. Trừ phần lưng và mép bụng, có thể chất cứng, còn toàn bộ mai mực có thể dùng móng tay nghiền dễ dàng thành bột mịn. Vị hơi mặn và chát. Mùi hơi tanh.

Bột

Phần nhiều màu trắng, dưới kính hiển vi thấy: Đa số ở dưới dạng phiến mỏng trong suốt, không đều, một số có gợn nhỏ. Những mảnh vỡ không đều, mặt có hình vân lưới hay đốm nổi gợn lên.

Định tính

Lấy khoảng 0,5 bột dược liệu, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 %* (TT), sẽ có sủi bọt và tan gần hết.

Độ ẩm

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Mực bắt về loại bỏ thịt, giữ lại mai, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Cạo bỏ vỏ cứng ngoài, rửa sạch, phơi khô, thái thành miếng nhỏ hoặc tán thành bột mịn.

Bảo quản

Nơi khô, mát.

Tính vị, qui kinh

Hàm, ôn. Quy vào can, thận.

Công năng, chủ trị

Thông huyết mạch, trừ hàn thấp, chỉ huyết. Chủ trị: Thở huyết, nọc huyết, cam tẩu mã, băng lậu, đới hạ, đau loét dạ dày và hành tá tràng, âm nang lở ngứa.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 5 g đến 9 g, dạng thuốc bột hoặc phối ngũ trong các bài thuốc.

Dùng ngoài: Tán mịn, đắp lượng thích hợp vào chỗ lở loét.

Kiêng kỵ

Kỵ Bạch cập, Bạch liễm, Phụ tử.

MẠN KINH TỬ***Fructus Viticis trifoliae*****Quan âm biến**

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Mạn kinh (*Vitex trifolia* L.) hay cây Mạn kinh lá đơn (*Vitex rotundifolia* L. f.), họ Cỏ roi ngựa (Verbenaceae).

Mô tả

Quả hình cầu, đường kính 4 mm đến 6 mm, mặt ngoài màu xám đen hoặc nâu đen, phủ lông nhung màu xám nhạt như sương, có 4 rãnh dọc nông, đỉnh hơi lõm, đáy có đài tồn tại màu xám nhạt và cuống quả ngắn. Lá dài bao bọc 1/3 đến 2/3 quả, có 5 răng, trong đó có 2 răng xẻ tương đối sâu, được phủ kín lông tơ mượt. Chất nhẹ và cứng, khó đập vỡ. Mặt cắt ngang quả có 4 ô, mỗi ô có một hạt. Mùi thơm đặc biệt, vị nhạt, hơi cay.

Vi phẫu

Vỏ quả ngoài gồm 2 lớp: Biểu bì và hạ bì. Biểu bì có 1 lớp cutin khá dày, rải rác có lông tiết hình cầu. Hạ bì tế bào dài, dẹt, thành cũng tương đối dày.

Vỏ quả giữa: Phía ngoài tế bào không đều, hình nhiều cạnh, bầu dục hoặc tròn, thành mỏng; phía trong tế bào dài xếp dọc, thành dày hơn.

Vỏ quả trong: cấu tạo bởi tế bào mô cứng hình chữ nhật hoặc bầu dục, thành rất dày, căng vào phía trong thành tế bào càng dày.

Vỏ hạt cấu tạo bởi 1 đến 2 lớp tế bào hình mạng.

Nội nhũ gồm 1 đến 4 lớp tế bào hình bầu dục, trong có những hạt lớn nhỏ.

Bột

Màu nâu xám, tế bào biểu bì của lá đài hình hơi tròn, thành tế bào thường lượn sóng. Lông che chở có 2 đến 3 tế bào, tế bào ở đỉnh lớn hơn, có hình bướu. Tế bào vỏ quả ngoài hình nhiều cạnh, có đường vân kẻ của cutin và vết tích lông đã rụng, có lông tiết và lông che chở. Lông tiết có 2 loại, loại lông đơn bào ở đầu và

1 đến 2 tế bào ở chân và loại lông có 2 đến 6 tế bào ở đầu và 1 tế bào ở chân. Lông che chở có 2 đến 4 tế bào, dài 14 µm đến 68 µm, thường cong thành núm lồi. Tế bào vỏ quả giữa hình hơi tròn hay bầu dục, thành hơi hóa gỗ, có lỗ rõ. Tế bào tiết thường bị vỡ, có chứa các chất tiết, tế bào kề bên chứa giọt dầu màu vàng nhạt. Tế bào mô cứng của vỏ quả trong hình bầu dục hay hình vuông, đường kính 10 µm đến 35 µm. Tế bào vỏ hạt hình tròn hoặc hơi tròn, đường kính 35 µm đến 42 µm, thành có vân lưới, hóa gỗ.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat (8 : 2).

Dung dịch thử: Cát tinh dầu từ 40 g được liệ bằng phương pháp cất kéo bằng hơi nước. Pha một giọt tinh dầu trong 1 ml ether dầu hỏa (TT).

Dung dịch đối chiếu: Cát tinh dầu từ 40 g Mạn kinh tử (mẫu chuẩn) bằng phương pháp cất kéo bằng hơi nước. Pha một giọt tinh dầu trong 1 ml ether dầu hỏa (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, bản mỏng được để khô ngoài không khí rồi phun thuốc thử vanilin - acid sulfuric (TT), sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 phút. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 11,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ quả non, quả lép: Không quá 5,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Chất chiết được trong dược liệu

Chất chiết được trong nước: Không dưới 11,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10).

Dùng nước làm dung môi.

Chất chiết được trong ethanol: Không được dưới 7,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng ethanol 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, hái quả chín, loại bỏ tạp chất, phơi hay sấy khô.

Bào chế

Mạn kinh tử sống: Loại bỏ tạp chất.

Mạn kinh tử sao: Cho mạn kinh tử vào chảo, vi sao nhỏ lửa cho đến khi khô thơm. Giã dập khi dùng.

Bảo quản

Nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Khô, tân, vị hàn. Vào kinh can, phế, bàng quang, vị.

Công năng, chủ trị

Sơ tán phong nhiệt, khu phong thắng thấp. Chủ trị: cảm mạo, nhức đầu do phong nhiệt, sưng đau răng lợi, đau mắt kèm chảy nhiều nước mắt, hoa mắt, chóng mặt, phong thấp, cân mạch co rút.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 5 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Huyết hư không nên dùng.

MĂNG CỤT (Vỏ quả)***Pericarpium Garciniae mangostanae***

Vỏ quả chín phơi hay sấy khô của quả cây Măng cụt (*Garcinia mangostana* L.), họ Măng cụt (Clusiaceae).

Mô tả

Mảnh vỏ quả màu đỏ nâu, hơi cong queo, kích thước từ 3 cm đến 5 cm. Vỏ quả ngoài có màu nâu sậm, khá nhẵn, vỏ quả giữa có màu đỏ nâu, vết bẻ ở phần này cho thấy có những ống tiết chứa chất nhựa màu vàng hay vàng cam. Vỏ quả trong màu nâu nhạt, nhẵn, nhìn thấy rõ những mạch dẫn nhựa nhỏ và những vết hàn của múi. Đôi khi còn sót lại những lá đài đồng trường có hình gần như tròn, dính trên cuống.

Bột

Màu nâu, không mùi, vị hơi chát. Soi kính hiển vi: tế bào mô cứng có kích thước thay đổi, hình dạng biến thiên, thành rất dày, lỗ trao đổi rõ. Mạch mô mềm gồm những tế bào có thành mỏng, mang chất màu (đỏ nâu). Khối nhựa có màu (cam, đỏ cam, nâu). Tinh thể calci oxalat hình cầu gai (nhỏ, ít).

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 30 ml nước, đun trong cách thủy sôi 15 phút. Lọc qua 1 đến 2 lớp giấy lọc (dung dịch A).

Phản ứng 1: Cho vào hai ống nghiệm, mỗi ống 2 ml dung dịch A.

Ống 1: Thêm 1 giọt đến 2 giọt thuốc thử gelatin - natri clorid (TT), xuất hiện tủa trắng đục.

Ống 2: Thêm 1 giọt đến 2 giọt dung dịch sắt (III) clorid 1 % (TT), dung dịch có màu xanh rêu.

Phản ứng 2: Cho vào hai ống nghiệm, mỗi ống 2 ml dung dịch A.

Ống 1: Thêm 3 giọt thuốc thử Stiasny, đun nóng trong cách thủy 10 phút, xuất hiện tủa vón màu đỏ gạch.

Ống 2: Thêm 1 đến 2 giọt nước brom (TT), xuất hiện tủa ngà.

Cách pha thuốc thử Stiasny: Hỗn hợp formaldehyd - acid hydrocloric (2 : 1), chỉ pha khi dùng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G60F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - acid formic (5 : 4 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml hỗn hợp dung môi cloroform - ethyl acetat - acid formic (5 : 4 : 1), siêu âm trong 30 phút, lọc, lấy dịch lọc bốc hơi trên cách thủy đến cạn. Hòa cạn trong 2 ml hỗn hợp dung môi trên được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 2 g bột Măng cụt (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên một bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát huỳnh quang cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 1,0 % (Phụ lục 7.5).

Tạp chất

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.4).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng ethanol 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch khi vỏ quả đã chuyển sang màu đỏ hoặc màu tím. Bỏ phần thịt quả và hạt, lấy vỏ dùng tươi hay phơi khô.

Bảo quản

Bao bì kín, nơi khô ráo.

Tính vị quy kinh

Vị chát, tính ấm. Vào kinh đại tràng.

Công năng, chủ trị

Sát trùng chỉ lý, thu liễm sẩn da. Chủ trị: Đau bụng ỉa chảy, lý, khí hư bạch đới.

Cách dùng, liều dùng

Ngày dùng từ 20 g đến 60 g, dưới dạng thuốc sắc, hoặc dịch chiết thực rửa âm đạo trị bạch đới.

MÂM XÔI (Quả)

Fructus Rubi

Đùm dũm

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Mâm xôi (*Rubus alceaefolius* Poir.), họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả

Dược liệu là quả tụ hình cầu, thường dính với cuống, gồm nhiều quả hạch nhỏ xếp sát nhau thành cụm hình mâm xôi. Quả chín khô màu đỏ thẫm, đường kính khoảng 0,5 cm đến 1,0 cm. Quả hạch nhỏ mang nhiều tua dài, uốn theo nhiều phía, bên trong chứa hạch hình thận. Đầu quả lõm tròn, gốc quả lõm gắn vào cuống và 5 lá đài. Phía trong lá đài có nhiều chỉ nhị màu nâu đen, rời nhau. Quả có vị chua, hơi ngọt.

Bột

Bột màu nâu đỏ, soi kính hiển vi thấy nhiều lông che chở đơn bào, thành dày, màu nâu nhạt, trơn nhẵn hoặc hơi uốn lượn đường kính khoảng 7 µm đến 12 µm, dài khoảng 70 µm đến 300 µm. Mảnh mang màu đỏ hoặc vàng. Mảnh biểu bì gồm các tế bào hình đa giác hoặc tế bào dài và dẹt. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai đường kính 15 µm đến 25 µm, nằm trong đám mô mềm hoặc rải rác. Rải rác có các mảnh mạch màu vàng nhạt hay nâu đỏ.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol* (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột thô dược liệu, thêm 15 ml *ethyl acetat* (TT), ngâm trong 1 giờ, thỉnh thoảng lắc, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới cạn. Hòa tan cặn trong 1 ml *ethanol* 96 % (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Mâm xôi (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl các dung dịch trên, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin* 1 % trong *acid sulfuric đặc* (TT), sấy ở 110 °C đến khi rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng vị trí và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6). Dùng khoảng 1 g dược liệu (đã được tán mịn và cân chính xác), sấy trong tủ sấy ở 100 °C đến 105 °C, áp suất thường đến khối lượng không đổi.

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Vào tháng 5 đến 7, khi quả chín, hái về, loại bỏ tạp chất, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh mốc, mọt.

Tính vị qui kinh

Cam, toan, ôn. Vào kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Ích thận, cố tinh. Chủ trị: Tiểu nhiều lần, tiểu không cầm, hoặc thận hư dẫn đến tảo tiết, di tinh, liệt dương.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dưới dạng thuốc sắc hoặc hoàn.

MẬT ONG

Mel

Mật ong là mật của con Ong mật gốc châu Á (*Apis cerana Fabricius*) hay Ong mật gốc châu Âu (*Apis mellifera L.*), họ Ong mật (*Apidae*).

Mô tả

Chất lỏng đặc sánh, hơi trong và dính nhớt, có màu trắng đến màu vàng nhạt hoặc vàng cam đến nâu hơi vàng. Khi để lâu hoặc để lạnh sẽ có những tinh thể dạng hạt dần dần tách ra. Mùi thơm, vị rất ngọt.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Không dưới 1,38 (Phụ lục 6.5).

Nếu chế phẩm có đường kết tinh cần đun nóng trên cách thủy ở nhiệt độ không quá 60 °C cho tan hết đường, trộn đều, để nguội và tiến hành đo tỷ trọng.

Độ acid

Hòa tan 10 g chế phẩm với 100 ml nước cất mới đun sôi để nguội, thêm 2 giọt *dung dịch phenolphthalein* (TT) và 4 ml *dung dịch natri hydroxyd* (0,1 mol/l), xuất hiện màu hồng bền vững trong 10 giây.

Tinh bột và dextrin

Đun 2 g chế phẩm với 10 ml nước cất, để nguội, thêm 1 giọt *thuốc thử iod*, không được có màu xanh hoặc màu đỏ.

Cách pha thuốc thử iod: Hòa tan 26,0 g *iod* (TT) và 72 g *kali iodid* (TT) trong 100 ml nước, thêm 6 giọt *acid hydrocloric* (TT) và pha loãng với nước đến vừa đủ 500 ml, trộn đều và lọc qua phễu lọc thủy tinh xốp.

Tạp chất

Trộn đều 1 g chế phẩm với 2,0 ml nước cất, ly tâm. Gạn lấy phần cặn đem soi dưới kính hiển vi, ngoài hạt phấn hoa ra, không được có tạp chất khác.

Tro toàn phần

Không quá 0,4 % (Phụ lục 9.8).

Tro sulfat

Từ 0,1 đến 0,4 % (Phụ lục 9.9).

Clorid

Không quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).

Dung dịch A: Hòa tan 4,0 g chế phẩm trong nước, thêm nước vừa đủ 40,0 ml và lọc. Lấy 2,5 ml dung dịch A để tiến hành thử.

Calci

Không quá 0,06 %.

Lấy 1,0 ml dung dịch A, pha loãng với nước cất thành 10,0 ml. Dung dịch thu được không được chứa calci nhiều hơn 6,0 ml dung dịch calci mẫu 10 phần triệu thêm nước vừa đủ 10,0 ml (Phụ lục 9.4.3).

Sulfat

Không quá 0,02 %.

Lấy 7,5 ml dung dịch A để tiến hành thử (Phụ lục 9.4.14).

Chất nhầy tổng hợp

Pha loãng chế phẩm khoảng 8 lần với nước cất đun nóng. Nếu có chất nhầy tổng hợp sẽ xuất hiện tủa. Tủa này có khuynh hướng tan lại khi để nguội. Tủa tạo thành khi đun nóng, đem lọc, hòa tan tủa trong nước cất và thêm dung dịch fuchsin (TT), dung dịch sẽ chuyển sang màu hồng. Làm bão hòa dung dịch bằng natri sulfat khan (TT), sẽ cho tủa bông màu đỏ đậm.

Sacarin

Phương pháp chuyển sacarin thành acid salicylic:

Acid hóa 50 ml chế phẩm với dung dịch acid hydrochloric 16 % (TT). Chiết 3 lần, mỗi lần với 5 ml ether (TT). Gộp các dịch chiết ether rồi rửa với 5 ml nước cất. Bốc hơi ether. Hòa tan cặn trong một ít nước nóng, thêm nước cất cho vừa đủ 10 ml, thêm 2 giọt dung dịch acid sulfuric 38 % (TT). Đun sôi, thêm từng giọt dung dịch kali permanganat 5 % (TT) (cho quá thừa 1 giọt đến khi có màu hồng). Để nguội, hòa tan 1 g natri hydroxyd (TT) vào dung dịch, lọc vào một chén sứ, đun cách thủy đến khô rồi đem nung ở 210 °C đến 215 °C trong 20 phút.

Hòa cặn trong nước cất và acid hóa bằng dung dịch acid hydrochloric 16 % (TT), chiết với ether (TT) và bốc hơi ether. Nhỏ vào cặn 2 giọt dung dịch sắt (III) clorid 1 % (TT), không được xuất hiện màu tím.

Đường trao nhân tạo

Lắc 5 g chế phẩm với 20 ml ether etylic (TT). Lọc lấy dịch ether vào một ống nghiệm. Thêm 2 ml thuốc thử Fischer [Hòa tan 1 g resorcin (TT) trong acid hydrochloric đậm đặc (TT) vừa đủ 100 ml]. Lắc mạnh, quan sát màu của lớp dung dịch phía dưới, không được có màu đỏ cánh sen rõ rệt trong vòng 20 phút.

Vết rỉ sắt

Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 4 ml nước cất và 4 giọt dung dịch acid hydrochloric (TT), lắc đều. Nhỏ vài giọt

dung dịch kali ferocyanid 5 % (TT), không được xuất hiện màu xanh.

Định lượng

Dung dịch thuốc thử Fehling: Gồm dung dịch A và dung dịch B.

Dung dịch A:

Đồng sulfat tinh thể (TT) 34,66 g

Dung dịch acid sulfuric 15 % (TT) 2 đến 3 giọt

Nước cất vừa đủ 500 ml

Dung dịch B:

Natri kali tartrat (TT) 173 g

Natri hydroxyd (TT) 50 g

Nước cất vừa đủ 500 ml

Dung dịch glucose chuẩn 1 %: Cân chính xác khoảng 1 g glucose chuẩn (đã sấy ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi) cho vào bình định mức 100 ml, thêm nước để hòa tan và pha loãng với nước đến vạch, lắc đều.

Xác định độ chuẩn T: Lấy chính xác 10,0 ml dung dịch Fehling A (TT), 10,0 ml dung dịch Fehling B (TT) và 5 ml dung dịch kali ferocyanid 5 % cho vào một bình nón. Đun sôi dung dịch Fehling trong bình nón rồi chuẩn độ bằng dung dịch glucose chuẩn 1 % (nhỏ từng giọt) cho đến khi chuyển màu từ xanh lơ sang nâu xám. Thời gian từ khi bắt đầu chuẩn độ cho đến khi kết thúc là 4 phút và luôn giữ cho dung dịch sôi đều trong suốt quá trình định lượng.

Tính độ chuẩn T [lượng glucose khan (g) tương đương với 1 ml thuốc thử Fehling đã dùng].

Thông thường độ chuẩn T từ 0,00345 g đến 0,00375 g (tương đương với 6,9 ml đến 7,5 ml dung dịch glucose chuẩn 1 %).

Tiến hành định lượng: Cân chính xác khoảng 2 g chế phẩm cho vào bình định mức 100 ml. Thêm nước để hòa tan và pha loãng với nước vừa đủ đến vạch, lắc đều (dung dịch chế phẩm 2 %).

Tiến hành định lượng như phần xác định độ chuẩn T, bắt đầu từ “Lấy chính xác 10,0 ml dung dịch Fehling...” nhưng dùng dung dịch chế phẩm 2 % để chuẩn độ thay cho dung dịch glucose chuẩn 1 %.

Tính hàm lượng (%) đường khử tự do trong chế phẩm theo công thức sau:

$$X\% = \frac{T \times 20 \times 100 \times 100}{V \times P}$$

Trong đó:

T là lượng glucose khan (g) tương ứng với 1 ml thuốc thử Fehling đã chuẩn độ;

V là thể tích dung dịch chế phẩm 2 % đã tiêu thụ (ml);

P là khối lượng chế phẩm đem thử (g).

Hàm lượng đường khử tự do trong chế phẩm tính theo glucose khan không được dưới 64 % (kl/kl).

Bảo quản

Đựng trong bình, lọ, chai nút kín, không đựng trong thùng sắt. Để nơi mát, tránh ẩm thấp, tránh côn trùng (ruồi, bọ, chuột...).

Tính vị, quy kinh

Cam, bình. Vào các kinh phế, tỳ, đại trường.

Công năng, chủ trị

Bổ trung, nhuận táo, chỉ thống, giải độc. Chủ trị: Tỳ vị hư nhược, đau thượng vị, ho, táo bón, giải độc Ô đầu, điều hòa các vị thuốc.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 15 g đến 30 g. Dùng ngoài điều trị mụn nhọt không thu miệng, bỏng nước, bỏng lửa, liều lượng thích hợp.

Kiêng kỵ

Sôi bụng, ỉa chảy hay đầy bụng, không nên dùng.

MẪU ĐƠN BÌ (Vỏ rễ)

Cortex Paeoniae suffruticosae

Vỏ rễ phơi khô của cây Mẫu đơn (*Paeonia suffruticosa* Andr.), họ Mẫu đơn (Paeoniaceae).

Mô tả

Mẫu đơn bì hình ống hoặc nửa hình ống, có khe nứt dọc, hai mép thường cuộn cong vào trong hoặc mở ra, dài 5 cm đến 20 cm, đường kính 0,5 cm đến 1,2 cm, dày 0,1 cm đến 0,4 cm. Mặt ngoài màu nâu hay vàng nâu, có nhiều lỗ bì nằm ngang và vết sẹo rễ nhỏ, nơi tróc vỏ bần, có màu phấn hồng. Mặt trong của vỏ màu vàng tro hoặc nâu nhạt, có vân dọc nhỏ, rõ, thường có nhiều tinh thể nhỏ sáng. Chất cứng giòn, dễ bẻ gãy. Mặt gãy gần phẳng, có tinh bột, màu phớt hồng. Vị hơi đắng và se. Mùi thơm đặc biệt.

Bột

Màu nâu đỏ nhạt, hạt tinh bột rất nhiều, hạt đơn loại hình tròn hoặc hình đa giác, đường kính 3 µm đến 16 µm, rốn có dạng điểm hoặc kẽ nứt hoặc hình chữ V, hạt kép có từ 2 đến 6 hạt hợp thành. Những bó tinh thể calci oxalat có đường kính 9 µm đến 45 µm, đôi khi các tế bào chứa các tinh thể này lại đứng liền nhau, xếp thành các cụm bó tinh thể, có khi một tế bào lại chứa nhiều bó calci oxalat. Tế bào bần hình chữ nhật, thành hơi dày màu đỏ nhạt.

Định tính

A. Lắc 0,15 g bột dược liệu với 25 ml *ethanol* (TT) trong vài phút rồi lọc. Pha loãng 1 ml dịch lọc với *ethanol* (TT) thành 25 ml dung dịch. Đo quang phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1), dung dịch thu được phải có cực đại hấp thụ ở bước sóng 274 nm ± 1 nm.

B. Lắc 0,5 g bột dược liệu với 5 ml *ether ethylic* (TT) trong 10 phút, lọc; bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến

khô, hòa cồn trong 3 ml *ethanol* (TT), cho thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT), xuất hiện màu tía đỏ.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel* G.

Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat* (3 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu thêm 10 ml *ether ethylic* (TT), lắc kỹ, để yên 10 phút, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô, thêm 2 ml *aceton* (TT) để hòa tan cặn khô, được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan paeonol chuẩn trong *aceton* (TT) thành dung dịch có nồng độ 5 mg/ml. Nếu không có paeonol, lấy 1 g bột Mẫu đơn bì (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, lấy tấm sắc ký ra, để khô trong không khí, rồi phun *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % trong *ethanol* (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỉ lệ gỗ lẫn: Không quá 5,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,2 g bột dược liệu cho vào trong bình cầu, cất kéo hơi nước cho đến khi dịch cất ra được khoảng 450 ml, thêm nước vừa đủ 500 ml, lắc đều. Đo quang phổ hấp thụ của dung dịch này ở bước sóng 274 nm. Tính hàm lượng paeonol trong dược liệu theo A (1 %, 1 cm). Lấy 862 là giá trị A (1 %, 1 cm) của paeonol ở bước sóng 274 nm.

Dược liệu phải chứa paeonol ($C_{19}H_{18}O_3$) không dưới 1,2 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu. Đào lấy rễ, loại bỏ rễ nhỏ và đất, bóc lấy vỏ rễ, phơi khô.

Bào chế

Rửa sạch nhanh vỏ rễ, ủ mềm, thái đoạn, phơi khô.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh

Khô, tân, vị hàn. Vào các kinh tâm, can, thận.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt lương huyết, hoạt huyết hóa ứ. Chủ trị: Phát ban, khái huyết, nọc huyết, sốt hư lao, cốt chùng, vô kinh, bế kinh, nhọt độc sưng đau, sang chấn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hay hoàn tán, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người tỳ vị hư hàn, ỉa chảy, kinh nguyệt ra nhiều, phụ nữ có thai.

MẪU LỆ***Concha Ostreae*****Vỏ hào, vỏ hà**

Vỏ đã phơi khô của một số loại Hào như: Hào ống (*Ostrea gigas* Thunberg), Hào sông (*Ostrea rivularis* Gould) hay Hào Đại liên (*Ostrea talienwhanensis* Crosse), họ Hào (Ostreidae).

Mô tả

Hào ống (*O. gigas*): Dược liệu có hình dạng phiến thon dài, hai vỏ, gân ở lưng và bụng hầu hết song song, dài 10 cm đến 50 cm, dày 4 cm đến 15 cm. Vỏ bên trái lớn hơn vỏ bên phải; vỏ bên phải tương đối nhỏ, vẩy cứng, dày, xếp thành lớp hoặc tầng vằn đều đặn, mặt ngoài vỏ phẳng hoặc có một vài chỗ lõm màu tía nhạt, trắng xám, hoặc nâu vàng; mặt trong màu trắng sứ. Hai cạnh của vỏ không có răng cưa nhỏ. Vỏ trái lõm rất sâu, vằn thô và to hơn vỏ bên phải. Mặt gắn ở đỉnh nhỏ. Chất cứng nặng, mặt gãy có dạng tầng, màu trắng tinh, không mùi, vị hơi mặn.

Hào sông (*O. rivularis*): Thường dài 15 cm đến 25 cm, hình tròn trịa hoặc hình tam giác, vỏ trái lớn hơn vỏ phải, vỏ phải phẳng hơn. Mặt ngoài vỏ bên phải hơi gồ ghề, có màu xám, tía, nâu, vàng. Có vẩy đồng tâm, vẩy non mỏng, giòn, vẩy sinh trưởng đã lâu năm nhiều tầng, mặt trong màu trắng, mép có khi có màu tía nhạt.

Hào Đại liên (*O. talienwhanensis*): Hình tam giác, mép lưng, bụng có hình chữ V. Mặt ngoài vỏ bên phải có màu vàng nhạt, có vẩy đồng tâm thưa, gợn sóng lên xuống, mặt trong màu trắng bóng; vỏ bên trái, vẩy đồng tâm, dày, cứng; từ bộ phận đỉnh vỏ, tỏa ra tia sườn rõ rệt, mặt trong lõm có dạng của một cái hộp, mặt khớp nổi nhỏ.

Độ ẩm

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Có thể thu hoạch quanh năm, loại bỏ thịt, lấy vỏ rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Mẫu lệ khô, khi dùng rửa sạch, làm khô, tán vụn thành bột hoặc nung rồi mới tán bột.

Mẫu lệ nung (Đoạn mẫu lệ): Lấy mẫu lệ đã rửa sạch, đặt trên lò than, nung đến khi thành màu trắng tro xốp, lấy ra để nguội, nghiền nhỏ.

Bảo quản

Đề nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Hàm, vị hàn. Vào các kinh can, đờm, thận.

Công năng, chủ trị

Mẫu lệ: Trọng trấn an thần, tư âm tiềm dương, làm mềm chất rắn, tán kết khối, thu liễm cố sáp. Chủ trị: Đánh trống ngực, mất ngủ, chóng mặt, ù tai, tràng nhạc, đờm hạch.

Đoạn mẫu lệ: Cố sáp. Chủ trị: Tự hãn, đạo hãn, di tinh, băng huyết, đới hạ, đau dạ dày ợ chua.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 30 g, dạng thuốc sắc (cho vào túi vải màn sắc mẫu lệ trước), dạng thuốc tán.

Kiêng kỵ

Nếu âm hư mà không có hỏa và ỉa chảy thuộc hàn khí thì cấm dùng.

MIẾT GIÁP***Carapax Trionycis*****Mai ba ba**

Mai đã phơi hay sấy khô của con Ba ba (*Trionyx sinensis* Wiegmann), họ Ba ba (Trionychidae).

Mô tả

Miết giáp hình bầu dục hoặc hình trứng, mặt lưng cong lên, dài 10 cm đến 15 cm, rộng 9 cm đến 14 cm, mặt ngoài màu nâu đen hoặc lục sẫm, hơi sáng óng ánh, có vân lưới nhỏ, đốm màu vàng xám hoặc màu tro, dọc sống có đường gờ. Đốt sống cổ cong vào phía trong. Có 8 đôi xương sườn xếp 2 bên đốt sống thẳng ra mép. Chất cứng, mùi hơi tanh, vị mặn.

Độ ẩm

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 50 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Ba ba bắt được quanh năm, phần lớn thu hoạch vào mùa thu và mùa đông. Mổ lấy phần cứng ở trên lưng, cho vào nước sôi, đun 1 giờ đến 2 giờ cho đến khi lớp da trên mai có thể bong ra. Vớt lấy mai, bóc hết thịt còn dính lại, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Miết giáp: Lấy miết giáp khô, cho vào nồi đồ khoảng 45 phút, lấy ra để vào nước nóng, lập tức dùng bàn chải cứng chải sạch da thịt còn sót lại, rửa sạch, phơi khô.

Thổ miết giáp (chế dấm): Lấy cát sạch cho vào nồi rang cho tới khi cát tơi ra, cho Miết giáp vào, sao tới khi mặt ngoài hơi vàng. Lấy ra, loại bỏ cát, ngâm qua dấm, để khô, khi dùng giã nát. Cứ 10 kg mai Ba ba dùng 2 lít dấm.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh sâu, mọt, thỉnh thoảng đem phơi lại.

Tính vị, quy kinh

Hàm, vị hàn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Tư âm tiềm dương, nhuận kiên, thoái nhiệt, trừ trung hà. Chủ trị: Dùng điều trị âm hư phát sốt, lao nhiệt nóng trong xương, hư phong nội động, phụ nữ kinh bế, trung hà, sốt rét lâu ngày có báng, gan lách to.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 24 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ

Hư mà không nhiệt, vị yếu hay nôn mửa, tỳ hư có tiết tả, phụ nữ có thai không nên dùng.

MỒ HOA TRẮNG***Herba Clerodendri philippini***

Bạch đồng nữ, Bán trắng, Lẹo trắng, Mồ mâm xôi
Thân, cành mang lá đã phơi hay sấy khô của cây Mồ hoa trắng (*Clerodendrum philippinum* Schauer), họ Cỏ roi ngựa (Verbenaceae).

Mô tả

Dược liệu còn nguyên: Đoạn thân non vuông, đoạn thân già tròn, dài 20 cm đến 40 cm, đường kính 0,3 cm đến 0,8 cm, có lông vàng nhạt. Thân chia thành nhiều gióng dài 4 cm đến 7 cm, quanh mấu có một vòng lông tơ mịn. Lá mọc đối, gốc tròn hoặc hình tim, đầu nhọn, dài 10 cm đến 20 cm, rộng 8 cm đến 15 cm, mép nguyên hoặc có răng cưa rất nhỏ, có ít lông cứng và ở mặt dưới thường có tuyến nhỏ tròn, màu vàng, gân lá nổi rõ, gân phụ có hình mạng lưới, cuống lá phủ nhiều lông. Lá vỏ có mùi hăng đặc biệt. Cụm hoa do các xim nhỏ tập hợp thành chùy ở đỉnh thân, phủ đầy lông màu hung, dài 11 cm đến 15 cm. Lá bắc hình trái xoan hoặc hình mũi mác. Hoa màu trắng hoặc vàng ngà. Nhị và vòi nhụy thò dài. Quả hạch hình cầu, đen bóng, có lá đài tồn tại màu đỏ.

Dược liệu đã cắt đoạn: Đoạn thân, cành lá được cắt thành đoạn dài khoảng 1 cm.

Vì phẫu

Lá: Biểu bì trên và dưới mang lông che chở đa bào, có 3 đến 8 tế bào. Lông tiết đa bào nằm sâu trong biểu bì, chân ngắn, đầu to, tròn, gồm 6 đến 8 tế bào xếp xoè ra, ngoài có lớp cutin bao bọc, phồng lên hình đầu. Tuyến tiết đa bào to, hình đĩa, nằm sát biểu bì. Mặt dưới gân chính lồi nhiều hơn. Hai đám mô dày ở 2 chỗ lồi của gân chính. Có 9 đến 11 bó libe-gỗ xếp thành một vòng tròn ở gân giữa. Libe ở bên ngoài, gần như nối liền nhau. Tinh thể calci oxalat hình khối chữ nhật, thường ở mô mềm ruột của gân giữa. Mô giậu gồm một hàng tế bào.

Bột

Màu lục xám, mảnh lông che chở, lông tiết đa bào nhìn thẳng từ trên xuống có hình tròn, nhìn nghiêng đầu to, chân bé, tuyến tiết hình đĩa đa bào, có khi vỡ thành từng mảnh. Mảnh biểu bì dưới có nhiều lỗ khí gồm 2 đến 4 tế bào kèm, có khi có cả lông tiết và vết tích lông che chở. Lỗ khí bị tách riêng. Tinh thể calci oxalat hình khối vuông hoặc hình chữ nhật. Mảnh mô mềm gân lá gồm các tế bào hình chữ nhật.

Định tính

Lấy 3 g bột lá cho vào bình nón có nút mài, dung tích 100 ml. Thêm 1 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*. Trộn đều. Thêm vào bình 20 ml *cloroform (TT)*, lắc nhẹ 10 phút, để yên trong 1 giờ, lọc dịch chiết vào một bình cạn, thêm 3 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, lắc nhẹ vài phút, để lắng. Gạn lấy lớp dung dịch acid cho vào ống nghiệm, nhỏ vài giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)* sẽ có kết tủa màu vàng cam.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Thu hái cành lá quanh năm, tốt nhất vào lúc cây sắp ra hoa hoặc đang ra hoa, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Khi dùng thái nhỏ, sao vàng, sắc uống. Có thể nấu cao đặc.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Vị đắng, mát. Vào các kinh tâm, tỳ, can, thận.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, khu phong, tiêu viêm. Chủ trị: Khí hư, bạch đới, kinh nguyệt không đều, mụn nhọt, lở ngứa, vàng da, gân xương đau nhức, lưng mỏi, huyết áp cao.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 12 g đến 16 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

MƠ MUỐI***Fructus Armeniacae praeparatus*****Điêm mai, Bạch mai**

Quả già màu vàng đã chế muối của cây Mơ (*Prunus armeniaca* L. Syn *Armeniaca vulgaris* Lam.), họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả

Quả hạch hình cầu dẹt, to nhỏ không đều, đường kính 1 cm đến 3 cm. Mặt ngoài màu nâu nhạt có nhiều nếp nhăn. Đáy có vết cuống quả hình tròn lõm sâu. Thịt quả mềm dính muối, thịt quả bị rách để lộ vỏ quả trong cứng rắn, màu nâu nhạt. Hạt hình trứng dẹt, màu vàng nhạt. Vị chua, mặn.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - cloroform - ethyl acetat - acid formic (20 : 5 : 8 : 0,1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột chế phẩm (phần thịt quả), thêm 30 ml methanol (TT), lắc siêu âm trong 30 phút, để nguội và lọc. Bay hơi dịch lọc tới khô, hòa tan căn trong 20 ml nước và chuyển vào bình gạn; chiết với ether (TT) hai lần, mỗi lần 20 ml, gộp dịch chiết và bay hơi dịch chiết tới khô. Ngâm căn thu được trong 15 ml ether dầu hòa (TT) (độ sôi 30 °C đến 60 °C) loại bỏ lớp ether dầu hòa, làm như vậy 2 lần, trong khoảng 2 phút. Hòa tan căn còn lại trong 2 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Sử dụng 5 g Mơ muối (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ngoài không khí. Phun dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT) và sấy ở 105 °C cho đến khi xuất hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Chế biến

Điêm mai (Bạch mai): Hái quả Mơ gần chín vàng, không bị rụng, phơi héo, dùng nước rửa sạch, để ráo, sau đó cho vào vại sành, muối như muối cà (không đổ nước). Được 3 ngày, 3 đêm, vớt ra, phơi khô tại nơi lại cho vào vại muối lần thứ 2 một ngày một đêm nữa. Sau đó lấy ra, phơi, sấy đến độ ẩm dưới 15 %, trên quả Mơ muối kết tinh thành lớp màu trắng là được.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh ẩm.

Tính vị, quy kinh

Toan, hàn, ôn. Vào các kinh can, tỳ, phế, đại trường.

Công năng, chủ trị

Nhuận phế, sinh tân dịch, sáp trường, sát trùng. Chủ trị: Ho lâu ngày phế hư, hư hỏa tiêu khát, ỉa chảy, lý mạn tính, đau bụng, hồi quyết (đau bụng do giun đũa).

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 10 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các loại thuốc khác. Bạch mai có thể dùng thịt quả bỏ hạch cứng, dùng sắc thuốc thì không cần bỏ hạch cứng.

Kiểm kỵ

Bệnh cần phát tán không nên dùng.

MỘC HƯƠNG (RỄ)***Radix Saussureae lappae***

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Mộc hương, còn gọi là Vân mộc hương, Quảng mộc hương [*Saussurea lappa* (DC) C. B. Clarke], họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Rễ hình trụ tròn hoặc hình chùy, dài 5 cm đến 15 cm, đường kính 0,5 cm đến 5 cm. Mặt ngoài màu vàng nâu đến nâu nhạt. Có vết nhăn và rãnh dọc khá rõ, đôi khi có vết tích của rễ con. Thở chất hơi cứng, khó bẻ, vết bẻ không phẳng, màu vàng nâu hoặc nâu xám. Mùi thơm hắc đặc biệt.

Vi phẫu

Lớp bản gồm vài lớp tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ ngoài mỏng gồm các tế bào phân nhiều hình đa giác, thành mỏng. Dải libe cấp 2 rời nhau, ngoằn ngoèo, xếp thành dãy xuyên tâm. Trong và ngoài các dải libe rải rác có các túi tiết tinh dầu. Tầng sinh libe-gỗ gồm một vòng tế bào. Gỗ cấp 2 xếp thành dãy xuyên tâm, hợp thành từng dải ứng với mỗi dải libe. Tia ruột gồm 6 đến 10 hàng tế bào thành mỏng.

Bột

Màu vàng nâu, vị cay hơi đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bản màu nâu vàng. Mảnh mô mềm chứa những hạt inulin màu hơi vàng. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn và mạch mạng. Sợi hợp thành từng bó hoặc đứng riêng lẻ, túi tiết tinh dầu hình tròn, chứa chất tiết màu vàng. Ngoài ra có nhiều hạt inulin hình khối, hình chuông, màu hơi vàng, có vân mờ, có kích thước khác nhau.

Định tính

A. Lấy một ít bột dược liệu, trải trên lam kính, nhỏ một giọt glycerin (TT). Soi kính hiển vi thấy những tinh thể hình cầu.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluene - ethyl acetat (95 : 5).

Dung dịch thử: Đun hồi lưu trên cách thủy 2 g bột dược liệu với 10 ml ethanol (TT) trong 10 phút, lọc. Lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Mộc hương (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 8 cm đến 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun hỗn hợp gồm 0,5 ml anisaldehyd (TT), 85 ml methanol (TT) và 5 ml acid sulfuric (TT). Sấy bản mỏng ở 80 °C đến khi xuất hiện vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và có cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (có 2 vết chính màu tím đỏ ở vị trí sát nhau, R_f nằm trong khoảng 0,3 đến 0,5. Các vết này sẽ chuyển sang màu tím xanh khi tiếp tục sấy ở 100 °C đến 105 °C).

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g bột thô dược liệu.

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 30,0 g bột thô dược liệu, thêm 300 ml nước, cất trong 3 giờ. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 0,4 %.

Chế biến

Đào lấy rễ, rửa sạch, bỏ rễ con và thân lá còn sót lại hoặc bỏ cả vỏ ngoài (lớp bần) rồi cắt thành khúc dài 5 cm đến 15 cm, phơi trong bóng râm hoặc sấy ở nhiệt độ thấp đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Khô, tân, ôn. Vào các kinh tý vị, đại tràng, can.

Công năng, chủ trị

Hành khí chỉ thống, kiện tỳ hòa vị. Chủ trị: Khí trệ, ngực bụng đầy trướng, đau bụng, nôn mửa, ỉa chảy.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, bột.

Kiêng kỵ

Các chứng bệnh do khí hư, huyết hư mà táo thì không dùng.

MỘC QUẢ (Quả)

Fructus Chaenomelis

Quả chín đã chế biến, phơi hay sấy khô của cây Mộc qua [*Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai], họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả

Quả thon dài, bỏ dọc thành hai nửa đối nhau, dài 4 cm đến 9 cm, rộng 2 cm đến 5 cm, dày 1 cm đến 2,5 cm. Mặt ngoài màu đỏ tía hoặc nâu đỏ, có nếp nhăn sâu, không đều; mép mặt lõm cong vào phía trong, cùi quả màu nâu đỏ, phần giữa lõm xuống, màu vàng nâu. Hạt dẹt hình tam giác dài, thường rơi ra ngoài; mặt ngoài hạt nhẵn bóng. Chất cứng, mùi thơm nhẹ, vị chua, hơi chát.

Bột

Bột màu nâu tía. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì tế bào hình chữ nhật. Mảnh mô mềm gồm các tế bào hình nhiều cạnh, rải rác có tế bào mô cứng đứng riêng hay hợp thành từng đám, màu vàng, hình trái xoan, thành dày, có ống trao đổi rõ. Mảnh mạch mạng. Tinh thể calci oxalat hình khối chữ nhật.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml ethanol 70 % (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 1 giờ, lọc, được dịch lọc A dùng để làm các phản ứng sau:

Lấy 2 ml dịch lọc A, bốc hơi trên cách thủy đến gần khô, thêm 1 ml anhydrid acetic (TT) và 1 ml cloroform (TT), khuấy kỹ và lọc vào một ống nghiệm khô. Cho thận trọng dọc theo thành ống nghiệm khoảng 1 ml acid sulfuric (TT), ở giữa hai lớp dung dịch sẽ xuất hiện vòng màu đỏ tím, lớp dung dịch phía trên có màu xanh lục.

Nhỏ vài giọt dịch lọc A lên một miếng giấy lọc, để khô rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm sẽ thấy vết huỳnh quang xanh nhạt sáng.

Nhỏ chồng lên vết dịch lọc này 1 giọt đến 2 giọt dung dịch nhôm clorid 1 % trong methanol (TT), để khô rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm sẽ thấy vết huỳnh quang xanh lục sáng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid formic - nước (8 : 1,5 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 ml dịch lọc A, cô trên cách thủy đến gần khô, thêm vào căn 1 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dùng 1 g bột Mộc qua (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Trên một bản mỏng chấm riêng biệt 10 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí sau đó phun dung dịch nhôm clorid 1 % trong methanol (TT). Để khô bản mỏng và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở

bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải cho các vết cùng màu và cùng giá trị R_f so với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ acid

Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml nước, lắc mạnh, để lắng 1 giờ, lọc lấy dịch lọc, tiến hành thử độ pH (Phụ lục 6.2), pH phải từ 3 đến 4.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ hoặc mùa thu. Hái lấy quả màu vàng hơi xanh lục, luộc đến khi vỏ ngoài biến thành màu trắng hơi xám, vớt ra bỏ đôi dọc quả và phơi khô.

Bào chế

Rửa sạch, ủ mềm hay đồ kỹ rồi thái lát mỏng và phơi khô.

Bảo quản

Nơi khô, tránh ẩm và mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Toan, ôn. Vào các kinh tỳ, vị, can, phế.

Công năng, chủ trị

Bình can dương, thư cân, hòa vị, hóa thấp. Chủ trị: Phong hàn thấp tý, thất lưng gối nặng nề đau nhức, cân mạch co rút, hoắc loạn, chuột rút, cước khí.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc.

MỘC HOA TRẮNG***Cortex Holarrheneae*****Mộc hoa trắng, Thừng mực lá to**

Vỏ cây đã phơi hoặc sấy khô của cây Mộc hoa trắng [*Holarrhena pubescens* (Buch. - Ham.) Wall. ex G. Don., Syn. *Holarrhena antidysenteria* (Roxb. ex Flem.) A. DC.], họ Trúc đào (Apocynaceae).

Mô tả

Miếng vỏ hơi cong, dài ngắn không nhất định, dày 0,2 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu nâu sẫm, rải rác có những đám màu trắng xám, có nhiều nốt sần nhỏ, dễ tách ra. Mặt trong nhẵn, màu vàng nhạt hay vàng nâu. Dễ bẻ gãy, mặt bẻ lõm chồm, nhìn thấy rõ nhiều lớp chồng lên nhau. Mặt cắt có mô mềm mỏng, màu nâu đỏ thẫm, libe dày màu vàng nhạt, có nhiều lớp và lớn nhón như có sạn. Không mùi, vị rất đắng.

Vì phẫu

Lớp bần gồm 3 hàng đến 5 hàng tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ màu nâu đỏ thẫm. Lớp libe cấp 2 rất dày,

trong có xen kẽ nhiều đám mô cứng xếp thành nhiều tầng có các ống nhựa mủ. Bên cạnh mỗi đám sợi có nhiều tinh thể calci oxalat hình khối. Tia ruột gồm một đến hai tế bào chạy dài theo hướng xuyên tâm, thành tế bào mỏng. Trong cùng là tầng sinh libe-gỗ.

Bột

Mảnh mô mềm gồm những tế bào hình đa giác thành mỏng. Mảnh bần màu nâu nhạt. Tế bào mô cứng đứng rời hay xếp thành từng đám có màu vàng nhạt, hình nhiều cạnh, thành dày, khoang rộng có ống trao đổi rõ. Tinh thể calci oxalat hình khối chữ nhật dài khoảng 40 μ m, rộng khoảng 30 μ m. Mảnh mạch. Hạt tinh bột hình trứng dài có rốn rõ.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng amoniac đặc (TT), thêm 10 ml cloroform (TT), lắc đều, đập kín, ngâm trong 12 giờ. Lọc, lấy dịch lọc cho vào bình gạn, thêm 5 ml dung dịch acid hydrocloric 1 N (TT), lắc kỹ. Gạn lấy lớp acid cho vào 3 ống nghiệm:

Ống 1: Thêm 2 giọt đến 3 giọt thuốc thử Mayer (TT), xuất hiện tủa trắng.

Ống 2: Thêm 2 giọt đến 3 giọt thuốc thử Dragendorff (TT), xuất hiện tủa đỏ cam.

Ống 3: Thêm 2 giọt đến 3 giọt thuốc thử Bouchardat (TT), xuất hiện tủa nâu.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - dung dịch amoni hydroxyd 10 % (50 : 9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng amoniac đậm đặc (TT), đập kín, để yên 12 giờ, sau đó cho dược liệu vào bình Soxhlet chiết bằng cloroform (TT). Lấy dịch chiết cất thu hồi dung môi, cô tới cạn. Hòa cân trong 1 ml cloroform (TT) dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 1 mg conexin chuẩn trong 1 ml methanol (TT). Nếu không có conexin chuẩn thì dùng 5 g vỏ Mộc hoa trắng (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun thuốc thử Dragendorff (TT). Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết conexin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng dung dịch đối chiếu là dịch chiết của vỏ Mộc hoa trắng thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 5,5 % (Phụ lục 9.7).

Kim loại nặng

Không quá: 10 phần trăm Pb; 2 phần trăm Cd; 0,5 phần trăm Hg; 3 phần trăm As (Phụ lục 9.4.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 N (TT)*, để yên 1 giờ, sau đó trải dược liệu ở chỗ thoáng cho khô. Chiết bằng hỗn hợp dung môi *ethanol - cloroform* (1 : 3) trong bình Soxhlet cho đến kiệt alcaloid (kiểm tra bằng *thuốc thử Mayer*). Lấy dịch chiết lắc 5 lần với 20 ml, 20 ml, 10 ml, 10 ml và 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 N (TT)*. Tập trung các dịch chiết acid và kiểm hóa từ từ bằng *amoniac đậm đặc (TT)* cho đến pH 9 đến 10. Chiết lại bằng cách lắc 5 lần với 20 ml, 20 ml, 10 ml, 10 ml và 10 ml *cloroform (TT)*. Trước khi chiết lần cuối cùng thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 N (TT)* vào dịch nước. Lấy 10 ml *nước cất* cho vào bình gạn, rửa lần lượt từng dịch chiết cloroform, rửa như vậy 2 lần. Gộp các dịch chiết cloroform, thêm chính xác 20 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ)* và lắc kỹ 5 phút. Chuyển dịch acid vào bình nón, rửa dịch cloroform 2 lần, mỗi lần với 10 ml *nước cất* và gộp các nước rửa vào dịch acid trong bình nón. Thêm 3 giọt dung dịch chỉ thị hỗn hợp (xem ghi chú) và chuẩn độ acid thừa bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho đến khi dung dịch chuyển màu xanh nhạt.

Song song tiến hành một mẫu trắng như sau: Lấy chính xác 20 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ)*, thêm 20 ml *nước* và 3 giọt dung dịch chỉ thị hỗn hợp, chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho đến khi dung dịch chuyển màu xanh nhạt.

1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 0,017829 g alcaloid toàn phần.

Hàm lượng phần trăm (kl/kl) alcaloid toàn phần của dược liệu tính theo công thức:

$$\frac{(n - n') \times 1,7829}{P}$$

Trong đó:

n' là số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* dùng cho mẫu trắng;

n là số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* dùng cho mẫu thử;

P là khối lượng dược liệu tính bằng g (đã trừ độ ẩm).

Dược liệu phải chứa ít nhất 1,0 % alcaloid toàn phần tính theo conexin và tính theo dược liệu khô kiệt.

Ghi chú: Trộn 13 ml dung dịch xanh methylen [hòa tan 0,15 g *xanh methylen (TT)* trong 100 ml *ethanol (TT)* với dung dịch đỏ methyl (hòa tan 0,04 g *đỏ methyl (TT)* trong 70 ml *ethanol (TT)* và 25 ml *nước*] cho đủ 100 ml.

Chế biến

Lúc trời khô ráo, bóc lấy vỏ thân cây, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thoáng mát, tránh mốc mọt.

MỘC TẠC***Herba Equiseti debilis***

Phần trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Mộc tặc (*Equisetum debile* Roxb.), họ Mộc tặc (Equisetaceae).

Mô tả

Nhiều đoạn thân và cành hình ống dài 7 cm đến 15 cm, có khi tới 30 cm, đường kính 1 mm đến 2 mm, màu nâu sẫm. Cành màu lục nhạt, hơi vàng hay xám tro, có nhiều rãnh dọc song song, thành nhiều đốt. Mỗi mấu mang một vòng lá nhỏ, hình sợi màu nâu, dẹt ở góc và dính liền nhau thành một bẹ màu lục nhạt, có răng cưa nâu ôm lấy cành. Ở mỗi mấu có nhiều nhánh con mọc vòng, màu nâu. Chất giòn, dễ bẻ gãy. Mặt ngoài cành sờ ráp tay do biểu bì có chất silic. Bề đôi cành thấy giống rỗng, mấu gần đặc.

Vị phẫu

Biểu bì có một lớp tế bào xếp đều đặn, tầng cutin dày. Vòng mô dày liên tục sát biểu bì, phát triển nhiều ở những chỗ lồi, tế bào thành dày đều. Mô mềm vỏ chia làm 2 phần: Phần ngoài hình nhiều cạnh, hơi kéo dài theo hướng xuyên tâm, thành mỏng, tế bào chứa nhiều tạp lục; phần trong có các bó libe-gỗ xếp theo một vòng xen kẽ với các mô khuyết. Mỗi bó libe-gỗ gồm: Vòng nội bì, libe xếp giữa 2 dãy mạch gỗ, một khuyết nhỏ sát bên trong bó libe. Khuyết trung tâm rộng, chiếm khoảng 2/3 thiết diện vị phẫu.

Bột

Màu lục nhạt, vị hơi ngọt, hơi đắng chát. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì ở phần gốc thân màu da cam, tế bào hình chữ nhật dài, thành lượn sóng đều đặn. Mảnh quản bào hình thang. Mảnh mô dày gồm những tế bào hình chữ nhật thành dày khi nhìn trên bề mặt hoặc hình gần tròn khi nhìn ở mặt bên. Mảnh biểu bì ở phần giữa thân màu lục nhạt, tế bào hình chữ nhật ngắn hoặc gần vuông. Mảnh biểu bì thân với các lỗ khí đặc biệt. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại, bột Mộc tặc phát quang lấm tấm vàng.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun nhẹ trên cách thủy trong 5 phút, thỉnh thoảng lắc, lọc, cô dịch lọc còn khoảng 2 ml rồi cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml *nước*, lắc mạnh trong 1 phút (30 lần lắc), xuất hiện bọt bền trong 30 phút.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - acid formic (8 : 4 : 0,4).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 25 ml methanol 75 % và 1 ml acid hydrocloric (TT), đun hồi lưu trong 1 giờ, lọc, cô dịch chiết đến cạn. Hòa tan cồn trong 10 ml nước, chiết 2 lần với ethyl acetat (TT), mỗi lần 10 ml, cô dịch chiết ethyl acetat đến cạn. Hòa tan cồn trong 1 ml methanol (TT) để dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 1 mg kaempferol chuẩn trong 1 ml methanol (TT). Nếu không có kaempferol, lấy 1 g bột Mộc tặc (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và 2 µl dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí rồi phun dung dịch nhôm clorid 5 % trong ethanol. Quan sát ngay dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết phát quang cùng màu sắc và giá trị R_f với vết kaempferol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được dưới 4,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng ethanol 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ và mùa thu, cắt lấy phần trên mặt đất, loại bỏ tạp chất, phơi âm can đến khô.

Bào chế

Loại bỏ thân héo và gốc rễ còn sót lại, phun nước, ủ mềm, cắt đoạn và phơi khô.

Bảo quản

Nơi khô ráo.

Tính vị, qui kinh

Cam, vị khổ, bình. Quy vào kinh can, đờm, phế.

Công năng, chủ trị

Tán phong nhiệt, trừ mắt có màng (thoái ế). Chủ trị: Đau mắt đỏ do phong nhiệt, ra gió chảy nước mắt, mắt kéo màng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc.

MỘT DƯỢC (Gôm nhựa)

Myrrha

Chất gôm nhựa của cây Một dược [*Commiphora myrrha* (Nees) Engl.] và cây *Balsamodendron chrenbergianum* Berg., họ Trám (Burseraceae).

Mô tả

Một dược thiên nhiên: Có dạng khối, cục, hạt không đều, cục lớn dài 6 cm. Mặt ngoài màu nâu vàng hoặc nâu đỏ, có khi trong mờ. Một số có khối màu nâu đen, nhiều dầu, trên phủ bụi phấn màu vàng. Chất cứng, giòn. Mặt bị vỡ không phẳng. Có mùi thơm đặc biệt. Vị đắng hơi cay. Loại có màu nâu vàng, mặt vỡ hơi trong, tinh dầu nhuận, hương thơm nồng, vị đắng, không có tạp là tốt.

Định tính

Lấy vài hạt nhỏ một dược, cho thêm dung dịch vanilin trong acid hydrocloric (TT), lắc đều, sẽ có màu đỏ thẫm.

Độ ẩm

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Vỏ cây còn sót lại không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Thu hoạch từ tháng 7 đến 9 là tốt nhất, khi đó lượng Một dược nhiều, phẩm chất tốt. Năm sau, từ tháng 1 đến 3 lại có thể thu hoạch được. Nhựa cây được chảy ra từ vết nứt tự nhiên của cây Một dược. Để thu hoạch được nhiều, người ta có thể khía sâu vào vỏ thân và cành to. Nhựa mới chảy ra thành giọt sền sệt như dầu đặc, màu trắng hoặc vàng nhạt, dần dần biến thành khối cục cứng trong không khí, có màu vàng sẫm, nâu vàng hoặc có khi đỏ nhạt, cuối cùng là màu đỏ sẫm. Thu lấy nhựa, loại bỏ tạp chất.

Bào chế

Bột Một dược: Lấy Một dược sạch, giã vụn, sao qua với Đẳng tâm thảo, tán bột mịn. Cứ 40 g Một dược dùng 1 g Đẳng tâm thảo.

Bột Một dược thủy phi: Cho ít rượu vào Một dược, nghiền nát, cho nước vào thủy phi đến bột mịn, phơi khô.

Cách khác: Lấy Một dược sạch, cho vào chảo sao nhỏ lửa đến mặt ngoài hơi tan, lấy ra, để nguội hoặc sao đến mặt ngoài hơi tan thì phun dấm, tiếp tục sao đến khi mặt ngoài sáng bóng, lấy ra để nguội. Cứ 100 kg Một dược dùng 6 lít dấm.

Bảo quản

Đề nơi khô, mát, tránh ẩm, trong bao bì kín.

Tính vị, qui kinh

Khô, bình. Vào các kinh can, tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết, khử ú, chỉ thống tiêu sưng, sinh cơ, thông kinh. Chủ trị: Kinh bế, thông kinh, đau thượng vị, nhọt độc sưng đau, sưng đau do sang chấn, trĩ, mục trướng (đục thủy tinh thể). Dùng ngoài để thu miệng, lên da non, vết loét lâu lành.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán.

Dùng ngoài tán bột để bôi, đắp.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai, mụn nhọt đã vỡ không nên dùng.

MUÔNG TRÂU (Lá)

Folium Senna alatae

Lá chét phơi hay sấy khô của cây Muông trâu [*Senna alata* (L.) Roxb. Syn. *Cassia alata* L.], họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Lá kép hình lông chim, dài 30 cm đến 40 cm, gồm 8 đến 12 đôi lá chét hình trứng hoặc hình bầu dục hẹp tròn ở hai đầu, lá chét dài 5 cm đến 13 cm, rộng 2,5 cm đến 7 cm, to dần về phía ngọn. Cuống ngắn hơi phình to ở gốc. Gân lá hình lông chim. Mặt trên lá màu xanh đậm, mặt dưới lá màu xanh nhạt hơn, hai mặt nhẵn. Mép lá nguyên.

Vi phẫu

Gân giữa của lá có mặt trên phẳng, mặt dưới lõm. Biểu bì trên và biểu bì dưới cả phần gân lá và phần phiến lá có lông che chở đơn bào ngắn, đầu nhọn, mặt dưới lá mật độ lông dày hơn. Riêng phần phiến lá có u lõm cutin và lỗ khí ở cả hai mặt. Các tế bào mô dày góc xếp thành đám nằm sát biểu bì ở phần gân lá. Một cung libe-gỗ nằm giữa gân lá, hai đầu cung cuộn vào phía trong nhưng không giáp nhau. Libe nằm thành từng đám nhỏ liên tục, gồm những tế bào nhỏ thành nhẵn nhéo, xen kẽ với các đám libe là mô mềm libe gồm những tế bào to hơn, tròn, vách mỏng. Gỗ tập trung thành một đám dày những tế bào có thành hóa gỗ ở vùng mặt trên cuống lá và tạo một vòng cung gồm những bó gỗ hình tam giác ở mặt dưới vùng cuống lá. Phía ngoài cung libe-gỗ có một vòng mô cứng bao quanh thành một vòng kín hình tim ở vùng gân lá, gồm những tế bào có thành dày. Phía trong cung libe-gỗ có mô mềm đặc gồm những tế bào thành mỏng hình đa giác. Tinh thể calci oxalat hình lập phương nằm trong những tế bào mô mềm ven theo cung mô cứng.

Phần mô mềm gồm những tế bào to, thành mỏng, vùng phiến lá có những khuyết hình xoan.

Phần phiến lá có hai lớp mô giậu, chiếm 1/2 bề dày của phiến lá.

Bột

Bột màu xanh, chất xốp nhẹ. Soi kính hiển vi thấy: mảnh biểu bì trên và biểu bì dưới của lá có tế bào thành mỏng mang lông che chở đơn bào ngắn, đầu nhọn, lỗ khí kiểu song bào và u lõm cutin. Mảnh biểu bì của cuống lá và gân lá có mang lông che chở đơn bào. Mảnh lông đơn bào bị gãy, mảnh mô mềm. Sợi kèm tinh thể calci oxalat hình khối lập phương riêng lẻ. Mảnh mạch điểm, mạch mạng, mạch xoắn và mạch vạch.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 25 % (TT)* đun sôi trong 2 phút, để nguội, lọc vào bình gạn. Cho vào dịch lọc 5 ml *cloroform (TT)*, lắc. Để lắng, gạn lấy lớp cloroform, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, lắc, để lắng, lớp kiềm có màu hồng hoặc đỏ.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - acetone - benzen (4 : 3 : 3).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu đun cách thủy với 20 ml *ethanol 96 % (TT)* trong 30 phút, để nguội, lọc, để bay hơi đến gần khô. Thêm vào cân 10 ml nước và 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* đun cách thủy 30 phút, để nguội sau đó lắc với 20 ml *ether ethylic (TT)* 2 lần, dịch ether được bay hơi đậm đặc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Pha dung dịch chrysophanol chuẩn 0,1 % trong *ethanol 96 % (TT)*. Nếu không có chất đối chiếu, dùng 2 g bột lá Muông trâu (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng trong không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm và đặt bản mỏng trên hơi amoniac. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 0,7 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Lấy 0,5 g bột dược liệu cho vào bình nón 100 ml. Thêm 5 ml *acid acetic băng (TT)*. Đun hỗn hợp

20 phút với ống sinh hàn ngược trong cách thủy sôi. Để nguội, thêm vào bình nón 40 ml *ether ethylic* (TT) và đun hồi lưu trên cách thủy 15 phút. Để nguội, lọc qua bông vào một bình gan 250 ml, rửa bông bằng 10 ml *ether ethylic* (TT). Cho bông trở lại vào bình nón, lặp lại cách chiết như trên 2 lần, mỗi lần dùng 10 ml *ether ethylic* (TT) và đun hồi lưu cách thủy có sinh hàn ngược được làm lạnh bằng nước đá trong 10 phút. Để nguội, lọc qua bông. Tráng bình nón bằng 10 ml *ether ethylic* (TT), lọc qua bông trên. Tập trung các dịch lọc ether ethylic vào bình gan trên.

Thêm cẩn thận 50 ml *dung dịch kiềm - amoniac* (xem ghi chú) vào dịch chiết ether ethylic đựng trong bình gan, lắc trong 5 phút. Sau khi hỗn hợp đã phân lớp hoàn toàn, gạn lớp nước màu đỏ trong suốt vào bình định mức 250 ml. Tiếp tục chiết lớp ether 3 lần, mỗi lần với 40 ml *dung dịch kiềm - amoniac* (TT). Tập trung các dịch chiết kiềm vào bình định mức và thêm *dung dịch kiềm - amoniac* tới vạch.

Hút 25 ml dung dịch thu được cho vào một bình nón và đun nóng 15 phút trong cách thủy với ống sinh hàn ngược. Để nguội, đo mật độ quang ở bước sóng 520 nm (Phụ lục 4.1), so sánh với mẫu trắng là dung dịch kiềm - amoniac.

Nồng độ anthranoid trong dung dịch cần đo được biểu thị bằng 1,8 dihydro anthraquinon và xác định bằng đường cong chuẩn.

Xây dựng đường cong chuẩn: Pha một dãy dung dịch cobalt clorid ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) có nồng độ từ 0,2 % đến 5 % và đo mật độ quang các dung dịch này ở bước sóng 520 nm (Phụ lục 4.1). Trên trục tung ghi mật độ quang đo được. Trên trục hoành ghi nồng độ dẫn chất anthranoid tương ứng với nồng độ cobalt clorid, tính ra mg trong 100 ml.

Theo quy ước, mật độ quang của dung dịch cobalt clorid 1 % bằng mật độ quang của 0,36 mg 1,8 dihydro anthraquinon trong 100 ml dung dịch kiềm - amoniac.

Hàm lượng phần trăm dẫn chất anthranoid so với được liệu tính theo công thức:

$$X\% = \frac{250 \times c}{10 \times a(100 - h)}$$

Trong đó:

c là nồng độ dẫn chất anthranoid bằng mg/100 ml tính theo đường cong chuẩn;

a là khối lượng dược liệu (g);

h là độ ẩm dược liệu (%).

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,2 % dẫn chất anthranoid biểu thị bằng 1,8 dihydro anthraquinon tính theo dược liệu khô kiệt.

Ghi chú: Dung dịch kiềm - amoniac: Lấy 5 g *natri hydroxyd* (TT) thêm 2 ml *amoniac đậm đặc* (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ, hái lấy lá, phơi âm can, hoặc sấy nhẹ hay sao đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh ánh sáng.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào các kinh can, đại trường.

Công năng, chủ trị

Nhuận tràng, lợi gan mật, tiêu độc, tiêu viêm, sát trùng, chỉ ngứa. Chủ trị: Táo bón (dùng sống), viêm gan, da vàng (dùng được liệu đã sao khô).

Dùng ngoài chữa hắc lao, viêm da thần kinh, ngứa lở.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 5 g (nhuận tràng), dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài: Lượng thích hợp, rửa sạch, giã nát lá, lấy nước cốt bôi, một ngày 2 lần, hoặc lấy lá tươi vò, chà sát vào chỗ bị hắc lao.

Kiểm kỵ

Phụ nữ có thai không nên dùng.

NGA TRUẬT (Thân rễ)

Rhizoma Curcumae zedoariae

Tam nại, Nghệ đen, Ngải tím

Thân rễ đã chế biến phơi hay sấy khô của cây Nga truật [*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe], họ Gừng (Zingiberaceae).

Mô tả

Thân rễ hình trứng, dài 4 cm đến 6 cm, đường kính 2,5 cm đến 4 cm, mặt ngoài màu nâu, vàng xám đến màu nâu xám, có những mấu nhô lên, hình vòng, các đốt dài khoảng 5 mm đến 8 mm có những vân nhăn dọc nhỏ, những vết sẹo của rễ đã loại đi và vết nhô ra của nhánh ngang. Nhìn qua kính lúp, thấy mặt ngoài thân rễ phủ những lông thô. Chất rắn như sừng, khó cắt. Mặt cắt ngang màu nâu xám, có một vòng nâu xám nhạt ở giữa, phân cách trụ dày với phần vỏ dày 2 mm đến 5 mm. Mùi thơm nhẹ, đặc biệt, vị mát lạnh, hăng, cay, đắng.

Vi phẫu

Mặt cắt ngang thân rễ: Một số lớp vỏ bao (chu bì), lớp vỏ rộng, hóa gỗ, có những bó mạch nhỏ và to nằm rải rác. Lớp tương tự nội bì, gồm các tế bào thành mỏng. Kế tiếp là một đám những bó mạch không đều, tập trung sát trung trụ gần như tạo thành vòng tròn. Trong mô mềm rải rác có những tế bào chứa tanin và những ống dầu to, dễ thấy. Tế bào mô mềm chứa đầy những hạt tinh bột đơn, hạt tinh bột có rốn dạng điểm lệch tâm.

Bột

Màu vàng nâu, mùi thơm nhẹ, vị hăng, cay, đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh mô mềm gồm những tế bào

có thành mỏng chứa các hạt tinh bột đã bị hồ hóa. Nhiều hạt tinh bột đơn bị hồ hóa không còn nhìn rõ vân và rốn. Mảnh mạch xoắn, mạch vạch. Bó sợi nhỏ.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g bột được liệu.

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Gốc thân, vảy lá còn sót lại: Không quá 1,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Hàm lượng tinh dầu không được ít hơn 1,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa đông, khi phần trên mặt đất khô héo. Đào lấy thân rễ, rửa sạch, đồ chín đến thấu lõi, rồi phơi khô hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp, sau đó loại bỏ rễ con và tạp chất.

Bào chế

Nga truyệt: Lấy Nga truyệt khô, ngâm qua, rửa sạch, đồ mềm, thái lát mỏng, phơi hay sấy khô.

Thổ Nga truyệt (chế phẩm): Lấy lát Nga truyệt sạch, tẩm dấm một đêm, 600 g Nga truyệt, ngâm trong 160 ml dấm, 160 ml nước, đun đến thấu lõi (cạn chất lỏng), sao đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh ẩm.

Tính vị, quy kinh

Khô, tân, ôn. Vào các kinh can, tỳ.

Công năng, chủ trị

Hành khí, phá huyết, chỉ thống, tiêu tích. Chủ trị: Kinh nguyệt huyết khối, bế kinh, đau bụng kinh, bụng đầy trướng đau do thực tích khí trệ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hay hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai không nên dùng.

Cơ thể hư yếu sau khi sinh có tích trệ không nên dùng, muốn dùng phải phối hợp với Nhân sâm, Bạch truyệt.

NGÀI CỨU

Herba Artemisiae vulgaris

Ngọn thân đã phơi hay sấy khô của cây Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Ngọn thân dài không quá 30 cm, có khía dọc, màu vàng nâu hay nâu xám, có lông tơ. Lá mọc so le, có cuống hoặc không, thường nhăn nheo, cuộn vào nhau. Lá có nhiều dạng: Lá trên ngọn nguyên, hình mác; lá phía dưới xẻ một hoặc hai lần hình lông chim. Mặt trên lá màu xám đến xanh đen, nhẵn hay có rất ít lông tơ, mặt dưới lá màu tro trắng, có rất nhiều lông tơ trắng như mạng nhện nằm đẹp, cụm hoa đầu, gồm nhiều hoa hình ống.

Vĩ phẫu

Lá: Phần gân lá: Gân chính lõm ở cả 2 phía trên và dưới. Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một hàng tế bào hình trứng và đều mang 2 loại lông che chở đa bào: lông đa bào một dãy và lông đa bào hình chữ T (đầu lông có 1 tế bào hình thoi nằm ngang, chân lông đa bào dính vào giữa tế bào hình thoi). Sát lớp biểu bì là đám mô dày gồm 2 hàng đến 3 hàng tế bào có thành dày ở góc. Mô mềm gồm các tế bào hình gần tròn hoặc hình nhiều cạnh, thành mỏng, tương đối đều. Có 3 đến 5 bó libe-gỗ rời nhau xếp thành hình cung cân đối: bó ở giữa to nhất, các bó hai bên nhỏ dần (cấu tạo libe-gỗ chồng kép). Libe gồm những tế bào nhỏ hình đa giác xếp bao lấy gỗ, các mạch gỗ xếp thành hàng tương đối đều đặn.

Phần phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm 1 hàng tế bào có kích thước lớn hơn tế bào ở phần gân lá, mang lông che chở đa bào. Biểu bì dưới mang lỗ khí nhô hẳn ra ngoài biểu bì. Dưới lớp biểu bì trên có 1 lớp mô giậu gồm 1 hàng tế bào hình chữ nhật, xếp vuông góc với biểu bì, kế đến là mô khuyết.

Thân: Mặt cắt ngang có hình gần như đa giác do có nhiều chỗ lõm, từ ngoài vào trong có: Biểu bì gồm 1 hàng tế bào nhỏ hình trứng, mang lông che chở đa bào 1 dãy và lông đa bào hình chữ T. Đám mô dày tập trung ở các chỗ lõm. Mô mềm vỏ gồm các tế bào thành mỏng xen kẽ giữa các đám mô dày. Từng đám mô cứng hình thoi (hai đầu nhỏ, ở giữa phình to) nằm úp lên phần libe của các bó libe-gỗ. Tầng phát sinh libe-gỗ và libe tạo thành vòng. Gỗ và đám mô cứng phía ngoài libe tạo thành bó tròn, tập trung nhiều ở các chỗ lõm. Mô mềm ruột cấu tạo bởi những tế bào thành mỏng, các tế bào phía ngoài hình tròn hay đa giác; ở giữa bị kéo dài ra, phần trung tâm các tế bào tròn và to hơn.

Bột

Lông che chở (bị gãy hoặc còn nguyên) đa bào hoặc đa bào hình chữ T (đầu đơn bào hình thoi, chân lông đa bào một dãy). Lông tiết: đầu có một tế bào, chân có 3 tế bào. Mảnh biểu bì thân gồm tế bào hình chữ nhật. Mảnh biểu bì lá gồm tế bào có thành mỏng, nhăn nheo. Lỗ khí thường tách rời khỏi biểu bì và đứng riêng lẻ. Sợi dài, thành hơi dày, đứng riêng lẻ hoặc tụ

hợp thành từng đám. Tế bào mô cứng hình trái xoan thành dày, khoang rộng, có ống trao đổi rõ. Mảnh mạch điểm, mạch vạch, mạch xoắn.

Định tính

A. Lấy 5 g dược liệu đã cắt nhỏ cho vào bình nón có nút mài dung tích 50 ml, thêm khoảng 30 ml nước, đun sôi 3 phút đến 5 phút. Gạn lấy dịch chiết nước vào chén sứ, cô còn khoảng 1 ml. Thêm 5 ml ethanol 96 % (TT), lọc qua giấy lọc được dung dịch A để làm các phản ứng sau:

Phản ứng 1: Nhỏ vào 3 lỗ của khay sứ trắng, mỗi lỗ 3 giọt dung dịch A, lần lượt làm như sau:

Lỗ 1: Thêm 1 giọt dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT), dung dịch chuyển màu xanh đen.

Lỗ 2: Thêm 1 giọt dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT), xuất hiện tủa màu vàng, tủa tan trong lượng thừa thuốc thử.

Lỗ 3: Thêm 1 giọt thuốc thử Diazo (TT) và 2 giọt dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT), xuất hiện màu đỏ tươi.

Phản ứng 2: Nhỏ 2 giọt đến 3 giọt dung dịch A lên một tờ giấy lọc, để khô. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, thấy huỳnh quang vàng lục. Tiếp xúc với hơi amoniac, xuất hiện màu vàng tươi.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic (15 : 2 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 2 g dược liệu đã cắt nhỏ, thêm 30 ml ethyl acetat (TT), lắc đều, ngâm trong 1 giờ. Gạn lấy dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa lẫn trong 1 ml ethanol 96 % (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Ngải cứu (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 25 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun hỗn hợp dung dịch acid boric 10 % - dung dịch acid oxalic 10 % (2 : 1), sấy bản mỏng ở 100 °C trong 5 phút rồi quan sát bản mỏng dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 15,0% (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ thân và cành: Không quá 35,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 40 g dược liệu đã cắt nhỏ, thêm 200 ml nước, cất trong 3 giờ. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 0,25 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thường thu hái vào tháng 5 đến 6 (lúc chưa ra hoa), chặt lấy đoạn cành dài không quá 40 cm, mang nhiều lá, loại bỏ tạp chất, phơi âm can hay sấy nhẹ tới khô.

Bào chế

Ngải cứu khô: Loại bỏ tạp chất và cành, rây bỏ chất vụn, thu được Ngải diệp, rửa qua nước cho mềm, thái ngắn, phơi khô.

Ngải thán (hoặc Thổ Ngải thán): Chọn Ngải diệp sạch cho vào nồi sao to lửa đến khi đa phần (khoảng 7 phần 10) chuyển thành màu đen, trộn đều với dấm, sao khô hoặc lấy ra phơi ở chỗ mát 2 ngày đến 3 ngày cho khô. Cứ 100 kg lá Ngải cứu dùng 15 lít dấm.

Ngải nhung dùng để (châm) cứu: Lá Ngải cứu sạch phơi khô, sao qua, để cho mềm, cho vào cối giã kỹ, khi nào mịn như nhung là được, bỏ xơ và bọt vụn.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Khô, tân, ôn. Vào các kinh can, tỳ, thận.

Công năng, chủ trị

Chỉ huyết, trừ hàn thấp, điều kinh, an thai. Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, băng huyết, rong huyết, thổ huyết, khí hư bạch đới, động thai, viêm ruột, lỵ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài trị đau do sang chấn: Lấy Ngải cứu tươi, rửa sạch, giã, đắp nơi đau với liều thích hợp.

Kiêng kỵ

Âm hư huyết nhiệt, không nên dùng.

NGHỆ (Thân rễ)

Rhizoma Curcumae longae

Khương hoàng, Uất kim

Thân rễ đã phơi khô hay đồ chín rồi phơi hoặc sấy khô của cây Nghệ vàng (*Curcuma longa* L.), họ Gừng (Zingiberaceae).

Mô tả

Thân rễ hình trụ, thẳng hoặc hơi cong, đôi khi phân nhánh ngắn dạng chữ Y, dài 2 cm đến 5 cm, đường

Kính 1 cm đến 3 cm. Mặt ngoài màu xám nâu, nhẵn nhéo, có những đường vòng ngang sít nhau, đôi khi còn vết tích của các nhánh và rễ. Mặt cắt ngang thấy rõ 2 vùng vỏ và trụ giữa; trụ giữa chiếm gần 2/3 đường kính. Chất chắc và nặng. Mặt bề bóng, có màu vàng cam. Mùi thơm hắc, vị hơi đắng, hơi cay.

Vi phẫu

Tiêu bản mới cắt, chưa nhuộm tẩy thấy rõ lớp vỏ dày, gồm nhiều hàng tế bào dẹt, trong đó rải rác có những tế bào màu vàng hoặc xanh xám, phía ngoài rải rác còn có lông đơn bào dài. Mô mềm vỏ gồm những tế bào tròn to, thành mỏng, chứa hạt tinh bột (được liệu đã đồ chín thì tinh bột ở trạng thái hồ) và rải rác trong mô mềm còn có tế bào tiết tinh dầu màu vàng và các bó libe-gỗ nhỏ. Nội bì và trụ bì rõ. Mô mềm ruột có cấu tạo giống mô mềm vỏ. Trong mô mềm ruột có những bó libe-gỗ rải rác nhiều hơn, một số bó tập trung sát trụ bì, gần như tạo thành một vòng tròn.

Bột

Mảnh mô mềm gồm những tế bào thành mỏng chứa các hạt tinh bột. Nhiều hạt tinh bột hình trứng dài 12 µm đến 50 µm, rộng 8 µm đến 21 µm, có vân đồng tâm và rón lệch tâm. Tế bào chứa tinh dầu và nhựa tạo thành những đám lớn nhỏ màu vàng. Mảnh mạch mạng và mạch vạch.

Định tính

- A. Lắc 0,5 g bột dược liệu với 3 ml *ethanol* 90 % (TT), để lắng. Nhỏ 3 đến 4 giọt dịch chiết ethanol lên giấy lọc. Để khô, trên giấy lọc còn lại vết màu vàng. Tiếp tục nhỏ từng giọt *dung dịch acid boric* 5 % (TT) rồi *dung dịch acid hydrocloric loãng* (TT), làm như vậy vài lần và hơi nóng nhẹ cho khô, vết vàng sẽ chuyển thành màu đỏ. Sau đó thêm 3 giọt *dung dịch amoniac* (TT), sẽ tiếp tục chuyển sang màu xanh đen.
- B. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại, bột dược liệu có huỳnh quang màu vàng tươi.
- C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi triển khai: Cloroform - acid acetic (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,1 g bột dược liệu cho vào cốc thủy tinh, thêm 5 ml *methanol* (TT), đun tới sôi rồi để nguội, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan curcumin chuẩn trong *methanol* (TT) để dung dịch có nồng độ khoảng 0,3 mg/ml. Nếu không có curcumin chuẩn, dùng 0,1 g bột Nghệ (mẫu chuẩn) chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 25 µl mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun hỗn hợp gồm 15 ml *dung dịch acid boric* 3 % (TT) và 5 ml *dung dịch acid oxalic* 10 % (TT), đã trộn kỹ.

Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải có các vết (3 vết) cùng màu sắc và giá trị R_f với 3 vết của curcumin chuẩn hoặc dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ non, xóp: Không quá 1,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 12,0 % (Phụ lục 12.10) tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh. Dùng *ethanol* 50 % (TT) làm dung môi.

Định lượng

Định lượng tinh dầu (Phụ lục 12.7).

Cho 30 g dược liệu đã tán thành bột thô vào bình cầu có dung tích 500 ml của bộ dụng cụ dùng định lượng tinh dầu trong dược liệu. Thêm 150 ml *nước*, tiến hành cất trong 3 giờ. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 4 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Đào lấy thân rễ, phơi khô, cũng có thể đồ hoặc hấp trong 6 giờ đến 12 giờ rồi đem phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Rửa sạch, ngâm 2 giờ đến 3 giờ, ủ mềm, thái lát mỏng, phơi khô.

Ngâm trong đồng tiền 3 ngày 3 đêm (ngày thay đồng tiền một lần), thái lát, phơi khô, sao vàng (hành huyết).

Bảo quản

Để nơi khô, trong bao bì kín, tránh bay mất tinh dầu. Cần phơi sấy luôn để tránh mốc, mọt.

Tính vị, qui kinh

Tân, khổ, ôn. Vào các kinh can tỳ.

Công năng, chủ trị

Hành khí, phá huyết, chỉ thống, sinh cơ. Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, bế kinh, đau tức sườn ngực, khó thở. Phụ nữ đau bụng sau đẻ do máu xấu không sạch, kết hờn cục, hoặc ứ huyết do sang chấn; viêm loét dạ dày; vết thương lâu liền miệng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc bột.

Dùng ngoài dưới dạng dịch tươi bôi vào vết thương để chóng lên da non.

Kiểm kỵ

Cơ thể suy nhược, không có ứ trệ, không nên dùng.

NGỌC TRÚC (Thân rễ)***Rhizoma Polygonati odorati***

Thân rễ đã phơi khô của cây Ngọc trúc [*Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce], họ Mạch môn đông (Convallariaceae).

Mô tả

Dược liệu hình trụ tròn, hơi dẹt, ít phân nhánh, dài 4 cm đến 18 cm, đường kính 0,3 cm đến 1,6 cm. Mặt ngoài màu trắng hơi vàng hoặc hơi vàng nâu, trong mờ, có vân nhẵn dọc và vòng đốt tròn hơi lồi, có vết sẹo của rễ con dạng điểm tròn, màu trắng và vết thân khí sinh dạng đĩa tròn. Chất cứng giòn hoặc hơi mềm, dễ bẻ gãy, mặt bẻ tựa như sừng. Mùi nhẹ, vị hơi ngọt, nhai có cảm giác nhót dính.

Vi phẫu

Tế bào bản, dẹt ở hai đầu, hoặc hình chữ nhật nén dẹt, thành ngoài hơi dày lên, chất như sừng. Nhiều tế bào chứa chất nhầy rải rác trong mô mềm, đường kính 80 µm đến 140 µm, có chứa tinh thể calci oxalat hình kim. Rải rác có các bó mạch xếp đối xứng, một vài bó mạch gỗ bao quanh libe.

Định lượng

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 60 mg glucose khan (mẫu chuẩn) (đã sấy khô ở 105 °C đến khối lượng không đổi) cho vào bình định mức 100 ml. Hòa tan trong nước và pha loãng với cùng dung môi tới vạch, lắc kỹ (1 ml dung dịch chứa 0,6 mg glucose khan).

Xây dựng đường cong chuẩn: Lấy chính xác 1,0 ml; 1,5 ml; 2,0 ml; 2,5 ml; 3,0 ml dung dịch chuẩn cho vào bình định mức 50 ml riêng biệt, thêm nước vừa đủ tới vạch, trộn kỹ. Lấy chính xác lần lượt mỗi 2 ml của từng dung dịch trên cho vào các ống nghiệm có nắp, thêm vào mỗi ống 1 ml dung dịch phenol 4 %, lắc kỹ, thêm nhanh 7,0 ml acid sulfuric (TT), lắc, giữ trong cách thủy ở 40 °C trong 30 phút, rồi làm lạnh trong nước đá khoảng 5 phút. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 490 nm (Phụ lục 4.1), dùng hỗn hợp dung môi tương ứng làm mẫu trắng. Vẽ đường cong chuẩn, lấy độ hấp thụ làm trục tung và nồng độ là trục hoành.

Tiến hành: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu thô cho vào bình cầu đáy tròn, thêm 100 ml nước, đun hồi lưu 1 giờ, lọc qua bông lấy dịch lọc. Chiết như trên 1 lần nữa. Gộp các dịch lọc, bay hơi bớt dung môi rồi chuyển dịch chiết vào bình định mức 100 ml, pha loãng với nước tới vạch, lắc kỹ. Lấy chính xác khoảng 2 ml dung dịch trên, thêm 10 ml ethanol 96 % (TT), khuấy và ly tâm, hòa tan tủa vào nước, rồi chuyển vào

bình định mức 50 ml, pha loãng với cùng dung môi tới vạch. Lấy chính xác khoảng 2 ml dung dịch trên, tiến hành như đã mô tả ở phần Dung dịch chuẩn bắt đầu từ “thêm 1 ml dung dịch phenol 4 %”. Đo độ hấp thụ, tính lượng glucose (mg) của mẫu thử từ nồng độ đọc được trên đường cong chuẩn và tính hàm lượng phần trăm polysacharid.

Hàm lượng polysacharid trong dược liệu không ít hơn 6,0 %, tính theo lượng glucose (C₆H₁₂O₆), có trong dược liệu khô.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, đào lấy thân rễ, loại bỏ rễ con, rửa sạch, phơi cho mềm, đem ra lán và phơi, cứ làm như vậy, lán đi lán lại rồi phơi, đến khi không còn lõi cứng, phơi khô là được hoặc đem đồ Ngọc trúc tươi, rồi vừa lán, vừa phơi, đến khi trong mờ thì phơi khô là được.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày hoặc cắt đoạn và phơi khô.

Dạng thái phiến: Lấy dược liệu đã phơi khô, thái phiến vát dài 3 cm đến 5 cm, dày 2 mm đến 5 mm.

Ngọc trúc chế mật ong: Ngọc trúc đã thái phiến đem tẩm với mật ong (tỷ lệ: 1 đến 1,5 kg mật ong/10 kg dược liệu), ủ 30 phút đến 60 phút, sấy se, rồi dùng lửa nhỏ sao đến khi có màu vàng, mùi thơm, sờ không dính tay là được.

Dạng chưng: Ngọc trúc rửa sạch, đồ 6 giờ đến 8 giờ, ủ 1 ngày 1 đêm; tiếp tục làm như vậy 2 đến 3 lần đến khi vị thuốc có màu đen, thái khúc dài 2 cm đến 3 cm.

Ngọc trúc chế rượu: Ngọc trúc rửa sạch, ủ mềm, đồ 8 giờ cho mềm, thái khúc, thêm rượu (tỷ lệ: 1,5 kg rượu/10 kg Ngọc trúc), chưng 4 giờ. Đựng dược liệu vào dụng cụ bằng đồng hoặc bằng nhôm.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát, tránh mốc, sâu mọt.

Tính vị, quy kinh

Vị ngọt, tính mát. Vào các kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị

Dưỡng âm, nhuận táo, sinh tân, chỉ khát. Chủ trị: Trị ho khan, họng khô miệng khát, sốt nóng âm i về đêm, mồ hôi trộm, vị âm hư gây kém ăn, khó tiêu, hoặc vị nhiệt gây ăn nhiều chóng đói.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

Kiểm kỵ

Người dương suy âm thịnh, tỳ hư đờm thấp không nên dùng.

NGÔ CÔNG***Scolopendra***

Ngô công là cơ thể khô của loài Rết (*Scolopendra morsitans* Linnaeus), họ Rết (Scolopendridae).

Mô tả

Cơ thể rết thường nhỏ dài 7 cm đến 13 cm. Thân dẹt bao gồm khoảng 20 đốt, các đốt thân gần giống nhau, mỗi đốt mang một đôi chân. Rết có một đôi râu ngắn. Đầu ngắn do 6 đến 7 đốt hợp lại. Hai bên đầu có nhiều mắt đơn. Miệng nằm giữa 2 hàm trên. Đôi chân thứ nhất biến đổi thành chân hàm có móc chứa nọc độc, hướng thẳng về phía trước. Tuyến độc nằm trong gốc háng hay sâu hơn nữa. Hai đốt cuối thường không có chân. Đôi chân cuối cùng thường dài và duỗi về phía sau. Kết cấu mỏng manh dễ gãy theo đường nứt. Mùi hơi khó chịu đặc trưng, nếm thấy có vị hăng cay, hơi mặn.

Tro toàn phần

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được

Không được dưới 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 50 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Rết dùng làm thuốc được bắt vào mùa xuân hoặc mùa hè, được duỗi thẳng bằng que nứa xuyên từ đầu đến đuôi đem phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ que nứa, rửa sạch sao nóng nhẹ đến khi có màu vàng, cắt thành miếng nhỏ.

Bảo quản

Nơi khô mát tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn, có độc. Quy vào kinh can.

Công năng, chủ trị

Trừ kinh phong, giải rắn độc cắn. Chủ trị: Trẻ con kinh phong, uốn ván, phong thấp, rắn độc cắn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 3 g đến 5 g trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Không dùng cho phụ nữ có thai.

NGÔ THÙ DU (Quả)***Fructus Evodiae rutaecarpae***

Quả gần chín, phơi khô của cây Ngô thù du [*Evodia rutaecarpa* (A. Juss) Hartley], họ Cam (Rutaceae).

Mô tả

Quả hình cầu hoặc hình cầu dẹt, đường kính 0,2 cm đến 0,5 cm, mặt ngoài màu lục vàng thẫm đến màu

nâu, thô, xù xì. Có nhiều điểm chấm dầu nhô lên hoặc trũng xuống. Đỉnh quả có kẽ nứt hình sao 5 cánh, chia quả thành 5 mảnh. Gốc quả còn sót lại cuống phủ lông tơ vàng. Chất cứng, giòn. Mặt cắt ngang quả thấy rõ 5 ô, mỗi ô chứa 1 hạt đến 2 hạt màu vàng nhạt. Mùi thơm ngát, vị cay, đắng.

Bột

Bột màu nâu, lông che chở đa bào gồm 2 đến 6 tế bào, đường kính 140 µm đến 350 µm, vách ngoài có mấu bướu rõ rệt. Một số khoang tế bào chứa các chất màu vàng nâu đến đỏ nâu. Lông tiết có đầu hình bầu dục, gồm 7 đến 14 tế bào thường chứa chất tiết màu vàng và chân có 2 đến 5 tế bào. Cụm tinh thể calci oxalat hình cầu gai hoặc hình lăng trụ, đường kính 10 µm đến 25 µm. Tế bào mô cứng có thành dày và có ống trao đổi rõ thành từng cụm lớn hoặc rời rạc, đường kính 35 µm đến 70 µm. Mảnh mô mềm có chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai, hình lăng trụ. Tinh bột, khối màu, mạch vạch. Đôi khi còn thấy các mảnh vỡ màu vàng của các khoang dầu.

Định tính

Lấy 0,5 g bột dược liệu, cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrochloric* 1 % (TT), lắc mạnh vài phút, lọc. Lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *thuốc thử Mayer* (TT), lắc đều, sẽ có tủa màu trắng ngà.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm từ từ 2 ml *dung dịch p-dimethyl aminobenzaldehyd* (TT), đun nóng trên cách thủy, giữa hai lớp dung dịch sẽ hình thành vòng nâu đỏ.

Độ ẩm

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

Tạp chất

Cuống quả đã tách rời và tạp chất khác: Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu (Phụ lục 12.7). Dùng 100 g dược liệu. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 0,25 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch từ tháng 8 đến tháng 11, khi quả chưa nứt, cắt cành có quả, phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp (40 °C đến 50 °C), loại bỏ cành, cuống, lá, cuống quả và tạp chất khác.

Bào chế

Ngô thù du sống: Loại bỏ tạp chất.

Ngô thù du chế: Giã hoặc tán thô Cam thảo và sắc với đồng lượng nước, lọc bỏ bã, cho Ngô thù du sạch vào dụng cụ có nắp, trộn với nước sắc Cam thảo và ủ cho thấm hết, sao se, lấy ra phơi khô. Dùng 6 kg Cam thảo cho chế 100 kg Ngô thù du.

Bảo quản

Để nơi khô mát.

Tính vị, qui kinh

Tân, ôn, khô, tiểu độc. Quy vào kinh tỷ, vị, can, thận.

Công năng, chủ trị

Ôn trung, tán hàn, chỉ thống, giáng nghịch, chỉ ẩu. Chủ trị: Quyết âm đầu thống, hàn sán đau bụng, hàn thấp, cước khí, thượng vị đau trướng kèm nôn, ợ chua, ngũ canh tả.

Dùng ngoài: Hòa dấm đắp huyết dừng tuyến, chữa loét miệng lưỡi, huyết vừng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 1,5 g đến 4,5 g, phối ngũ trong các bài thuốc.

Dùng ngoài với lượng thích hợp.

Kiêng kỵ

Không dùng kéo dài và cho người âm hư nội nhiệt.

NGŨ BỘI TỬ***Galla chinensis***

Tổ đã phơi hay sấy khô của ấu trùng sâu Ngũ bội tử [*Melaphis chinensis* (Bell.) Baker = *Schlechtendalia chinensis* Bell.], ký sinh trên cây Muối, tức cây Diêm phu mộc (*Rhus chinensis* Muell.), họ Đào lộn hột (Anacardiaceae).

Mô tả

Túi hình trứng (Đỗ bội) hoặc hình củ ấu (Giác bội), phân nhánh nhiều hay ít, nguyên hoặc vỡ đôi, vỡ ba.

Đỗ bội: Hình trứng, hoặc hình thoi, dạng nang, dài 2,5 cm đến 9 cm, đường kính 1,5 cm đến 4 cm. Mặt ngoài màu nâu xám, hơi có lông tơ mềm. Chất cứng giòn, dễ vỡ vụn. Mặt gãy có dạng chất sừng, sáng bóng, dày 0,2 cm đến 0,3 cm; mặt trong phẳng, trơn, khoang rộng có chứa xác chết của ấu trùng, màu nâu đen, và chất bột bài tiết ra, màu xám. Mùi đặc biệt, vị se.

Giác bội: hình củ ấu, phân nhánh, không đều, dạng sừng, mặt ngoài có lông tơ mềm rõ rệt, vách tổ tương đối mỏng.

Vĩ phẫu

Biểu bì có nhiều lông che chở, thành dày. Mô mềm chứa hạt tinh bột nhỏ và tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Bó libe-gỗ rải rác, đôi khi có ống nhựa đi kèm.

Bột

Màu vàng nâu, vị chát. Soi kính hiển vi thấy lông che chở cấu tạo bởi 1 đến 2 tế bào, dài 70 μm đến 350 μm . Mảnh mô mềm chứa hạt tinh bột, đường kính 10 μm . Tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đường kính khoảng 25 μm ; ống nhựa ít gặp. Mảnh mạch xoắn.

Định tính

A. Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu, thêm 4 ml nước, đun nóng nhẹ, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT), sẽ có tủa đen lơ.

Lấy 1 ml dịch lọc trên, thêm 2 giọt dung dịch kali stibi tartrat (TT), sẽ có tủa trắng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - acid formic (5 : 5 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu thô, thêm 2 ml methanol (TT), siêu âm 15 phút. Lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan acid galic trong methanol (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml hoặc dùng 0,5 g Ngũ bội tử (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μl mỗi dung dịch thử trên. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với vết của acid galic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng dược liệu chuẩn để chuẩn bị dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch acid phosphoric 0,1 % (15 : 85), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần thiết.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu thô (qua rây số 355), thêm chính xác 50 ml dung dịch acid hydrocloric 4 M, đun trên cách thủy trong 3,5 giờ (để thủy phân), để nguội, lọc. Lấy chính xác 1 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml, pha loãng với methanol 50 % (TT) tới vừa đủ thể tích, trộn đều.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan acid galic trong methanol 50 % (TT) để được dung dịch có nồng độ đã biết khoảng 0,04 mg/ml và trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm $\times$ 4,6 mm), được nhồi pha tinh C (5 μm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 273 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min đến 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch chuẩn, tính toán số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic chuẩn acid galic phải không được dưới 3000.

Tiêm lần lượt dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử,

dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_7H_6O_5$ của acid galic chuẩn, tính hàm lượng acid galic trong dược liệu. Dược liệu phải chứa không được ít hơn 50,0 % acid galic ($C_7H_6O_5$) được tạo ra khi thủy phân, tính theo dược liệu khô kiệt.

Độ ẩm

Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Mảnh lá, mẫu cành: không quá 0,5 %.

Tỷ lệ vụn nát (Phụ lục 12.12)

Vỡ đôi, vỡ ba: Không quá 50 %.

Mảnh dưới 2 mm: Không quá 5 %.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, lấy về, luộc qua hoặc đồ cho đến khi mặt ngoài có màu tro, diệt chết nhộng sâu, lấy ra, phơi hoặc sấy khô. Dựa vào hình dạng bên ngoài mà chia ra Đỗ bội hay Giác bội.

Bào chế

Đập vỡ Ngũ bội tử, loại bỏ tạp chất, đem dùng.

Bảo quản

Đề nơi khô, tránh đập vỡ vụn nát.

Tính vị, quy kinh

Toan, sáp, hàn, bình. Vào các kinh phế, đại tràng, thận.

Công năng, chủ trị

Sáp trường chỉ tả, chỉ huyết, liễm sang, giải độc, liễm phế. Chủ trị: Tiêu chảy lâu ngày, lỵ lâu ngày, mề đay, trộm, tiện huyết, nôn ra máu, trĩ chảy máu, ngoại thương xuất huyết, nhọt độc, sang độc, ngoài da loét do thấp, phế hư ho lâu ngày, phế nhiệt ho có đờm.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 12 g, dạng thuốc sắc. Dùng ngoài lượng thích hợp.

NGŨ GIA BÌ CHÂN CHIM (Vỏ thân, vỏ cành)***Cortex Schefflerae heptaphyllae***

Vỏ thân và vỏ cành đã phơi hay sấy khô của cây Ngũ gia bì chân chim [*Schefflera heptaphylla* (L.) Frodin], họ Nhân sâm (Araliaceae).

Mô tả

Mảnh vỏ hơi cong kiểu hình máng, dài 20 cm đến 50 cm, rộng 3 cm đến 10 cm, dày khoảng 0,3 cm đến 1 cm. Dược liệu đã được cạo lớp bần, có màu nâu nhạt, lốm đốm vết xám trắng nhạt. Mặt cắt ngang gồm lớp ngoài lớn nhẵn như có sạn, lớp trong có sợi xốp và dễ tách dọc. Vỏ nhẹ và giòn. Mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.

Vì phẫu

Lớp bần còn sót lại gồm khoảng 10 hàng tế bào hình chữ nhật nằm ngang, thành hơi dày, xếp chồng lên nhau thành dãy xuyên tâm đều đặn.

Tầng sinh bần-lục bì gồm một lớp tế bào hình chữ nhật nằm ngang, xếp đều đặn. Tế bào mô cứng thành rất dày, hình chữ nhật hay hình nhiều cạnh, nằm ngang, khoang hẹp, xếp thành vòng liên tục sát tầng sinh bần - lục bì.

Mô mềm vỏ gồm các tế bào thành mỏng, hẹp và kéo dài theo hướng tiếp tuyến, trong mô mềm vỏ có các ống tiết rải rác. Vòng libe cấp 2 dày chiếm 2/3 chiều dày vỏ thân, tế bào libe thành mỏng. Sợi libe xếp thành đám, xen kẽ thành nhiều tầng trong libe. Tế bào sợi tròn thành dày. Cạnh đám sợi có tinh thể calci oxalat, tia tùy hẹp gồm 3 dãy tế bào đi xuyên qua vùng libe cấp 2, theo hướng xuyên tâm.

Bột

Nhiều tế bào mô cứng hình chữ nhật hoặc hình nhiều cạnh màu vàng nhạt, thành rất dày, có ống trao đổi rõ, đứng riêng lẻ hay tụ hợp thành từng đám. Sợi thành dày, có ống trao đổi rõ. Mảnh bần gồm tế bào chữ nhật, xếp đều đặn, thành dày. Mảnh mô mềm gồm các tế bào hình nhiều cạnh, thành mỏng. Tinh thể calci oxalat hình chữ nhật, hình lập phương, rộng khoảng 40 µm. Hạt tinh bột nhỏ, đường kính 4 µm, đôi khi tới 16 µm.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào bình nón, thêm 20 ml *ethanol* 96 % (TT), đun sôi, lắc, để nguội rồi lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, cho vào ống nghiệm, thêm 5 giọt *anhydric acetic* (TT), thêm từ từ theo thành ống nghiệm 0,5 ml *acid sulfuric* (TT). Lớp phân cách giữa hai dung dịch có vòng màu đỏ nâu.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Hệ dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (65 : 35 : 10), lấy lớp dưới.

Dung dịch thử: Lấy khoảng 2 g dược liệu đã được xay nhỏ, thêm 25 ml hỗn hợp *methanol* và *nước* (tỷ lệ 4 : 1), đun sôi hồi lưu trên cách thủy trong 30 phút, lọc, cô dịch lọc trên cách thủy đến gần khô. Hòa cồn trong 2 ml *methanol* (TT) làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Ngũ gia bì chân chim (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanilin* 1 % trong *acid phosphoric* 50 % (TT). Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 5 phút. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 4,5 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Vỏ thân, vỏ cành thu hái quanh năm, chủ yếu vào mùa xuân và mùa thu; lúc trời khô ráo, bóc lấy vỏ cây theo kích thước quy định, rửa sạch, bỏ lõi, cạo bỏ lớp bần ở ngoài, phơi trong bóng râm, ủ với lá chuối 7 ngày (thỉnh thoảng đảo cho đều, để nổi mùi hương) rồi lấy ra phơi hoặc sấy nhẹ (50 °C đến 60 °C) cho khô.

Bào chế

Vỏ rửa sạch, cắt thành từng đoạn ngắn, đồ mềm, thái miếng phơi khô.

Bảo quản

Đề nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Khô, sáp, lương. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Khu phong, trừ thấp, mạnh gân cốt. Chủ trị: Đau lưng, đau xương cốt do hàn thấp, gân xương co rút, sưng đau, hoặc sưng đau do sang chấn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 20 g vỏ khô, dạng thuốc sắc hoặc rượu thuốc.

NGŨ GIA BÌ GAI (Vỏ rễ, vỏ thân)***Cortex Acanthopanax trifoliati***

Vỏ rễ và vỏ thân đã phơi hay sấy khô của cây Ngũ gia bì gai [*Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr.], họ Nhân sâm (Araliaceae).

Mô tả

Mảnh vỏ cuộn hình lòng máng, dài 10 cm đến 20 cm, chiều rộng 0,5 cm đến 1 cm, dày khoảng 1mm đến 3 mm. Mặt ngoài có lớp bần mỏng, màu vàng nâu nhạt có một số đoạn rách nứt, để lộ lớp trong màu nâu thẫm. Mặt cắt ngang lõm chõm. Chất nhẹ, giòn, hơi xốp. Mùi thơm nhẹ.

Vi phẫu

Lớp bần gồm một số hàng tế bào hình chữ nhật, xếp chồng lên nhau thành dãy xuyên tâm đều đặn. Tầng phát sinh bần lục bì gồm một lớp tế bào hình chữ nhật. Mô mềm gồm những tế bào thành mỏng, hình dạng méo mó. Trong mô mềm vỏ rải rác có ống tiết và tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Sợi mô cứng xếp thành từng đám rải rác theo một vòng không liên tục giữa

ranh giới mô mềm và libe. Vùng libe dày có các tia tủy xuyên tâm. Tầng sinh libe-gỗ.

Bột

Nhiều tế bào mô cứng hình chữ nhật hoặc hình nhiều cạnh màu vàng nhạt, thành rất dày, ống trao đổi rõ, đứng riêng lẻ hoặc tụ lại từng đám. Sợi thành dày, có ống trao đổi rõ. Mảnh bần với tế bào hình nhiều cạnh, thành dày, màu vàng nhạt. Tế bào mô mềm hình nhiều cạnh, thành mỏng, chứa nhiều hạt tinh bột nhỏ hình nhiều cạnh, đơn hoặc kép. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai, có đường kính 12 µm đến 40 µm.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *n* - Butanol - ethanol - dung dịch amoniac (7 : 2 : 5).

[Pha dung dịch amoniac: Trộn 1 thể tích amoniac đậm đặc (TT) với 3 thể tích nước].

Dung dịch thử: Ngâm 0,5 g bột dược liệu với 5 ml ethanol 80 % (TT), đun trong cách thủy khoảng 15 phút, lọc lấy phần dịch trong.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan acid oleanolic trong cloroform (TT) để được dung dịch chứa 0,5 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl dung dịch thử và 10 µl dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch vanilin 1 % (TT) trong hỗn hợp cùng thể tích methanol (TT) và acid phosphoric (TT). Sấy bản mỏng ở 120 °C khoảng 5 phút, xuất hiện 3 vết màu tím trong đó có 1 vết cùng màu và cùng R_f với vết của acid oleanolic.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ.

Tro toàn phần

Không quá 6,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch vỏ rễ, vỏ thân vào mùa hạ, mùa thu. Ủ cho thơm, phơi trong bóng râm, chỗ thoáng gió hoặc sấy nhẹ ở 50 °C đến khô.

Bảo quản

Đề nơi khô, mát.

Tính vị, qui kinh

Tân, khô, ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Khu phong, chỉ thống, dưỡng huyết. Chủ trị: Đau lưng gối xương khớp co duỗi khó khăn, khí huyết hư, di tinh, liệt dương, tiểu tiện bí gây phù nề.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc ngâm rượu.

NGŨ VỊ TỬ

Fructus Schisandrae

Quả chín phơi hoặc sấy khô của cây Ngũ vị bắc [*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.] hoặc Ngũ vị nam (*Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils.) họ Ngũ vị (*Schisandraceae*).

Mô tả

Ngũ vị Bắc: Quả hình cầu không đều hoặc hình cầu dẹt, đường kính 5 mm đến 8 mm. Mặt ngoài màu đỏ, đỏ tía hoặc đỏ thẫm, nhẵn nhéo, có dầu, thịt quả mềm. Có trường hợp mặt ngoài màu đỏ đen hoặc phủ lớp phấn trắng. Có 1 hạt đến 2 hạt hình thận, mặt ngoài màu vàng nâu, sáng bóng. Vỏ hạt mỏng, giòn. Thịt quả mùi nhẹ, vị chua. Sau khi đập vỡ, hạt có mùi thơm. Vị cay, hơi đắng.

Ngũ vị nam: Quả tương đối nhỏ, mặt ngoài màu đỏ nâu đến nâu, khô héo, nhẵn nhéo. Thịt quả thường dính chặt vào hạt.

Vi phẫu

Ngũ vị bắc: Vỏ quả ngoài gồm một hàng tế bào hình vuông hoặc hình chữ nhật, thành hơi dày, bên ngoài phủ lớp cutin, rải rác có tế bào dầu.

Vỏ quả giữa có 10 hàng tế bào mô mềm hoặc hơn, thành mỏng chứa hạt tinh bột, rải rác có những bó mạch chằng chịt, nhỏ.

Vỏ quả trong gồm 1 hàng tế bào hình vuông nhỏ. Vỏ hạt có 1 hàng tế bào mô cứng xếp xuyên tâm kéo dài, thành dày, có các lỗ nhỏ dày đặc và các ống. Ngay bên dưới vỏ hạt có 3 hàng tế bào mô cứng hoặc hơn, hình tròn, hình tam giác, hoặc hình đa giác có lỗ tương đối lớn. Bên dưới lớp tế bào mô cứng, có mấy hàng tế bào mô mềm.

Phần sống non của hạt có các bó mạch; có một hàng tế bào hình chữ nhật chứa tinh dầu màu vàng nâu, dưới nữa là 3 hàng đến 5 hàng tế bào nhỏ.

Tế bào vỏ trong của hạt nhỏ, thành hơi dày. Tế bào nội nhũ chứa giọt dầu và hạt aleuron.

Bột

Ngũ vị bắc: Màu tía thẫm, tế bào mô cứng của vỏ hạt có hình đa giác hoặc đa giác kép dài khi nhìn trên bề mặt, đường kính 18 μ m đến 50 μ m, thành dày với các ống lỗ nhỏ, sát nhau; các khoang chứa chất dầu màu nâu sẫm vô định hình. Tế bào mô cứng của lớp trong vỏ hạt có hình đa giác, hình tròn hoặc các dạng hình không đều, đường kính tới 83 μ m, thành hơi dày với lỗ to. Tế bào vỏ hình đa giác khi nhìn trên bề mặt, thành tế bào phía ngoài lồi lên tạo thành lớp tế bào

dạng chuỗi hạt, phủ lớp cutin, có vân sọc. Trong vỏ quả rải rác có tế bào dầu. Tế bào vỏ quả giữa nhẵn nhéo, chứa chất màu nâu vô định hình và hạt tinh bột. Đám tế bào nội nhũ chứa giọt dầu và hạt aleuron.

Định tính

A. Lấy 1 g dược liệu thô, cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml nước, ngâm 10 phút, thỉnh thoảng lắc đều, lọc. Cô bốc hơi dịch lọc đến còn 2 ml đến 3 ml, cho thêm 10 ml đến 15 ml ethanol 96 % (TT), lắc mạnh trong 5 phút, lọc. Bốc hơi hết ethanol, thêm nước đến 10 ml, thêm 1 ít bột than hoạt, lắc đều, lọc. Lấy 2 ml dịch lọc, trung hòa bằng dung dịch natri hydroxyd 5 % (TT), thêm 1 giọt dung dịch đồng sulfat (TT), đun sôi, lọc, thêm 1 giọt dung dịch kali permanganat (TT), màu tím biến mất, xuất hiện kết tủa trắng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Lây lớp trên của hỗn hợp ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - ethyl format - acid formic (15 : 5 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu thêm 20 ml cloroform (TT). Đun hồi lưu cách thủy khoảng 30 phút, lọc, bốc hơi dịch lọc tới cạn. Hòa tan cặn trong 1 ml cloroform (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan deoxyschisandrin chuẩn trong cloroform (TT) để được dung dịch có nồng độ 1 %. Nếu không có chất đối chiếu thì dùng 1 g Ngũ vị tử (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng rồi quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết huỳnh quang có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỉ lệ vụn nát

Quả có đường kính dưới 0,5 cm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được dưới 19,0 % tính theo dược liệu khô kiệt. Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng ethanol 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, hái lấy quả chín, phơi khô hoặc sau khi đồ chín, phơi khô, loại bỏ cuộng và tạp chất.

Bào chế

Ngũ vị tử sống: Loại bỏ tạp chất, giã vụn khi dùng.

Thổ Ngũ vị tử (chế dấm): Lấy Ngũ vị tử trộn với một lượng đủ dấm, cho vào coóng kín, đồ đến có màu đen, lấy ra, phơi hay sấy khô, khi dùng giã dập. Cứ 100 kg Ngũ vị tử bắc cần 20 lít dấm, nếu cần pha loãng thêm. Sau khi chế mặt ngoài ngũ vị tử có màu đen, nhuận do có tinh dầu, hơi sáng bóng, thịt quả mềm, dính. Mặt ngoài vỏ quả trong có màu nâu đỏ, sáng bóng. Hạt màu đỏ nâu, sáng bóng.

Ngũ vị nam: Sau khi chế dấm, mặt ngoài có màu đen nâu, khi khô nhẵn nhéo, thịt quả thường dính chặt vào hạt và không nhót. Hạt có màu nâu, ít sáng bóng.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh mốc.

Tính vị, qui kinh

Toan, hàn, ôn. Quy vào kinh phế, thận.

Công năng, chủ trị

Liễm phế chỉ ho, sinh tân chỉ hàn, bổ thận cố tinh, chỉ tả, an thần. Chủ trị: Ho lâu ngày và hư suyễn, mộng tinh, di tinh, hoạt tinh, đái dầm, niệu tần, tiêu chảy kéo dài, tự hãn, đạo hãn, tân dịch hao tổn, háo khát, mạch hư, nội nhiệt, tiêu khát, đánh trống ngực và mất ngủ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 1,5 g đến 6 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Đang cảm sốt cao, lên sởi, sốt phát ban.

NGƯU BÀNG (Quả)***Fructus Arctii lappae*****Ngưu bàng tử**

Quả chín phơi khô của cây Ngưu bàng (*Arctium lappa* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Quả hình trứng ngược dài, hơi dẹt, hơi cong, dài 5 mm đến 7 mm, rộng 2 mm đến 3 mm. Mặt ngoài màu nâu hơi xám, có đốm màu đen, có vài gân dọc, thường có 1 đến 2 gân giữa tương đối rõ. Đỉnh tròn tù, hơi rộng, có vòng tròn ở đỉnh và vết vòi nhụy nhọn còn sót lại ở chính giữa. Đáy quả hơi hẹp lại. Vỏ quả tương đối cứng, khi nứt ra, trong có một hạt. Vỏ hạt mỏng, hai lá mầm màu trắng hơi vàng, có dầu. Không mùi, vị đắng, hơi cay và tê lưỡi.

Bột

Màu nâu hơi xanh lục; tế bào đá của vỏ quả hơi dẹt, hình thoi, thon nhỏ dần, hình bầu dục dài hoặc hình trứng thon dần, thấy có khảm nhỏ khi nhìn trên bề mặt. Nhìn từ phía bên, thấy hình gần chữ nhật hoặc

thon dài, hơi cong, dài 70 µm đến 224 µm, rộng 13 µm đến 70 µm; thành tế bào dày tới 20 µm, hóa gỗ, có các lỗ, bề ngang rộng ra. Khi nhìn ngang, thấy tế bào vân lưới của vỏ quả giữa, có hình đa giác, thành tế bào có những đốm dày. Nhìn dọc, thấy tế bào thon dài, thành tế bào có vân nhỏ, dày đặc, đan chéo. Tinh thể calci oxalat hình lăng trụ có đường kính 3 µm đến 9 µm, có nhiều trong tế bào mô mềm màu vàng của vỏ quả giữa, đường viền của các tế bào đá nhìn không rõ. Các tế bào lá mầm chứa đầy hạt aleuron, một số tế bào chứa những cụm tinh thể calci oxalat và những giọt dầu nhỏ.

Định tính

A. Quan sát bột được liệu dưới ánh sáng tử ngoại (365 nm) thấy có huỳnh quang màu lục.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Chloroform - methanol - nước (40 : 8 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 20 ml ethanol 95 % (TT), chiết siêu âm 30 phút, lọc. Bốc hơi dịch lọc tới cạn, hòa cồn trong 2 ml methanol (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Ngưu bàng (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT). Sấy bản mỏng đến khi hiện rõ vết. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có màu sắc và giá trị R_f giống các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 14,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Dùng 2,5 g dược liệu. Tiến hành theo phương pháp ngâm lạnh (Phụ lục 12.10), dùng ethanol 50 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, hái lấy chùm quả chín, phơi khô, đập nhẹ lấy quả, loại bỏ tạp chất rồi lại phơi khô.

Bào chế

Ngưu bàng tử: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi khô, khi dùng đập thành từng mảnh.

Ngưu bàng tử sao: Cho Ngưu bàng tử sạch vào nồi, sao nhỏ lửa đến khi hơi phồng lên, hơi có mùi thơm. Khi dùng giã nát.

Bảo quản

Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh

Tân, khô, hàn. Vào các kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị

Giải biểu nhiệt, tuyên phế, thấu chẩn, giải độc, thông lợi hầu họng. Chủ trị: Cảm mạo phong nhiệt, ho đờm nhiều, sốt, hầu họng sưng đau, quai bị, ngứa, mụn nhọt, đơn độc, nhọt độc sưng lở.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

NGƯU TẮT (RỄ)***Radix Achyranthis bidentatae***

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Ngưu tất (*Achyranthes bidentata* Blume), họ Rau giền (*Amaranthaceae*).

Mô tả

Rễ hình trụ, dài 20 cm đến 30 cm, đường kính 0,5 cm đến 1,0 cm. Đầu trên mang vết tích của gốc thân, đầu dưới thuôn nhỏ. Mặt ngoài màu vàng nâu, có nhiều nếp nhăn dọc nhỏ và vết tích của rễ con.

Vĩ phẫu

Mặt cắt rễ gần tròn, từ ngoài vào trong có: Lớp bên gồm các tế bào nhỏ, dẹt, xếp thành hàng đồng tâm và dây xuyên tâm, phần ngoài có nhiều chỗ bị bong ra. Mô mềm vỏ cấu tạo từ những tế bào hình nhiều cạnh, thành mỏng, xếp lộn xộn. Libe-gỗ xếp thành từng bó, mỗi bó có libe phía ngoài, mạch gỗ ở phía trong. Các bó libe-gỗ xếp rải rác thành bốn vòng đồng tâm, ở tâm các bó libe-gỗ có hình tam giác cân xếp sát nhau tạo thành những hình quạt.

Bột

Bột màu nâu nhạt, mùi hơi hắc, vị ngọt sau đắng. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bản, mảnh mô mềm thành mỏng, nhiều mảnh mạch điểm, tinh thể calci oxalat hình cầu gai kích thước 30 µm đến 40 µm và những mảnh vỡ hình khối của các tinh thể này.

Định tính

A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 50 ml *dung dịch natri clorid 1 % (TT)*, đun sôi nhẹ, lọc, cho dịch lọc vào ống nghiệm, lắc, xuất hiện nhiều bọt bền vững (saponin).

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (40 : 1).

Dung dịch thử: Cân 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml ethanol (TT), đun cách thủy hồi lưu trong 40 phút, rồi để yên. Lấy 10 ml dung dịch ở phía trên, thêm 10 ml acid hydrocloric (TT), đun hồi lưu trong 1 giờ, cô dịch

chiết còn khoảng 5 ml, rồi thêm 5 ml *nước*, chiết với 20 ml *cloroform (TT)*. Bốc hơi dịch chiết cloroform tới cạn, hòa cồn trong 2 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch acid oleanolic chuẩn 0,1 % trong ethanol (TT). Nếu không có acid oleanolic chuẩn có thể dùng 2 g bột rễ Ngưu tất (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch đối chiếu và 10 µl đến 20 µl dung dịch thử. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ngoài không khí rồi phun thuốc thử hiện màu là dung dịch acid phosphomolybdic 5 % trong ethanol (TT) và sấy ở 120 °C trong 5 phút. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu và giá trị R_f với vết của acid oleanolic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng Ngưu tất chiết dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỉ lệ gốc thân còn sót lại: Không quá 1,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Kim loại nặng

Không quá 3 phần triệu Pb; 0,8 phần triệu Cd; 1 phần triệu Hg, 2,0 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa đông, khi thân và lá khô héo, đào lấy rễ, chọn loại rễ to, cắt bỏ rễ con, loại bỏ đất, buộc thành bó nhỏ, phơi đến khi héo, khô nhãn, xông lưu huỳnh 2 lần cho mềm. Cắt bằng phần đầu, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh ẩm và mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Khô, toan, bình. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết thông kinh, mạnh gân cốt, bổ can thận. Chủ trị: Dùng trị đau lưng gối, mỏi gân xương; bế kinh, kinh nguyệt không đều, tăng huyết áp.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, dưới dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai, băng huyết không dùng.

NHA ĐAM TỬ***Fructus Bruceae javanicae*****Xoan rừng, Sầu đầu cắt chuột**

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Sầu đầu cắt chuột [*Brucea javanica* (L.) Merr.], họ Thanh thất (Simarubaceae).

Mô tả

Quả nhỏ hình trứng hay trái xoan, dài 6 mm đến 10 mm, đường kính 4 mm đến 7 mm. Mặt ngoài màu đen hoặc nâu. Trên mặt vỏ quả có những nếp nhăn hình mạng với các ô có hình đa giác không đều, cả hai mặt đều có gân rõ, đỉnh quả nhọn, đáy có vết cuống quả, vỏ cứng và giòn. Hạt hình trứng, dài 5 mm đến 6 mm, đường kính 3 mm đến 5 mm, mặt ngoài màu trắng hoặc trắng ngà, có vân lưới, vỏ hạt cứng mỏng, mặt trong vỏ hạt màu vàng, nhẵn bóng, nhân hạt (gồm nội nhũ và cây mầm) màu trắng kem, có dầu. Không mùi, vị rất đắng.

Vi phẫu

Ngoài cùng là lớp biểu bì dày, tiếp theo là mô mềm của vỏ quả giữa gồm một số hàng tế bào dẹt hình đa giác, trong có các mạch gỗ. Vòng mô cứng được tạo bởi các tế bào đa giác đều đặn, có thành dày. Trong cùng là mô mềm của nội nhũ, gồm các tế bào đa giác hoặc hơi tròn.

Bột

Bột vỏ quả: Màu nâu, tế bào biểu bì hình đa giác, chứa chất màu nâu, tế bào mô mềm hình đa giác, chứa cụm tinh thể calci oxalat hình lăng trụ đường kính tới 30 µm. Tế bào đá hình tròn hoặc hình đa giác, đường kính 14 µm đến 38 µm.

Bột hạt: Màu trắng ngà, tế bào vỏ hạt cứng hình đa giác, hơi kéo dài. Tế bào nội nhũ và lá mầm chứa hạt aleuron.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml *dung dịch natri clorid 1 % (TT)*, đun sôi nhẹ, lắc, lọc. Dịch lọc cho vào ống nghiệm, lắc mạnh theo chiều dọc ống nghiệm trong 15 giây, xuất hiện bọt bền ít nhất trong 60 phút, cột bọt không được dưới 1 cm.

B. Lấy 0,2 g bột dược liệu, thêm 2 ml *cloroform (TT)*, lắc đều, để yên 2 phút, lọc, cô dịch lọc tới cạn, hòa cạn vào 1 ml *anhydrid acetic (TT)* rồi cho vào ống nghiệm, cẩn thận thêm từ từ dọc theo thành ống 0,5 ml *acid sulfuric (TT)*. Mặt ngăn cách giữa hai lớp sẽ có màu nâu đỏ, lớp dung dịch phía trên có màu xanh rêu.

C. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 2 ml *amoniac đậm đặc (TT)*, trộn cho thấm đều, để yên 15 phút, thêm 15 ml *cloroform (TT)*, lắc, đun hồi lưu trên bếp cách thủy 15 phút, lọc. Cho dịch lọc vào bình gạn, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 2 % (TT)*, lắc trong 1 phút, để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, gạn lấy phần acid, lọc trong để làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch chiết acid, thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, dung dịch đục sau 5 phút.

Lấy 1 ml dịch chiết acid, thêm 6 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa màu nâu (sau khoảng 5 phút).

Độ ẩm

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ quả có màu nâu nhạt: Không quá 50,0 %.

Tỷ lệ quả non lép: Không quá 5,0 %.

Cành, cuống quả: Không quá 1,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 16,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 %* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, hái quả chín, loại bỏ tạp chất, phơi hay sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ vỏ cứng và các tạp chất, tách lấy hạt.

Bảo quản

Nơi khô, mát.

Tính vị, qui kinh

Khô, hàn, hơi độc. Quy vào kinh đại tràng.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, giải độc, triệt ngược, chỉ ly, hủ thực. Chủ trị: Ly amip, sốt rét. Dùng ngoài chữa hạt com, chai chân.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 0,5 g đến 2 g, dùng dạng nang hoặc bọc trong Long nhãn để nuốt, có thể ép bột dầu để tránh bị nôn. Dùng ngoài với lượng thích hợp, giã nát hoặc ép lấy dầu bôi.

Kiêng kỵ

Không dùng quá liều và kéo dài vì có thể gây đau bụng, nôn mửa, ỉa chảy, kém ăn, người mệt, không dùng cho người suy nhược, tỳ vị hư hàn.

NHÀU (Quả)***Fructus Morindae citrifoliae***

Quả già hay quả chín, tươi hoặc khô của cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.) họ Cà phê (Rubiaceae).

Mô tả

Quả tụ do nhiều quả đơn dính sát nhau tạo thành. Quả có hình bầu dục hơi thuôn dài, kích thước dài 4 cm đến 8 cm, rộng 2,5 cm đến 5 cm; cuống dài khoảng 0,5 cm đến 1 cm, dễ rụng khi chín. Quả già màu xanh lục, thịt chất cứng chắc, mặt ngoài sần sùi có nhiều mắt hình đa giác, mỗi “mắt” là một quả đơn gồm có

lớp cơm mềm bao quanh một hạt hình trứng. Khi chín, quả có màu trắng hoặc vàng nhạt, thể chất mềm, dễ rã ra, mùi khai. Mặt cắt ngang có màu trắng, mỏng nước, gồm nhiều ô đỉnh quanh một giá ở trung tâm, mỗi ô chứa một hạt; để lâu ngoài không khí chuyển thành màu nâu đen.

Lát cắt khô có hình gần như tròn hay bầu dục, màu nâu đen, thể chất dai, cứng, khó bẻ. Hạt hình trứng, dài khoảng 0,5 cm đến 1 cm, vỏ ngoài màu nâu bóng, nhân hạt màu trắng, có chứa nhiều dầu béo.

Vi phẫu

Thịt quả: Ngoài cùng là biểu bì có mang lỗ khí, kế đến là lớp mô mềm gồm các tế bào đa giác hơi tròn, thành mỏng, rải rác có tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình kim tụ thành bó. Thỉnh thoảng có bó mạch bị cắt ngang hoặc cắt dọc hay xéo. Hạt bị cắt ngang cho thấy lớp vỏ hạt gồm các tế bào hình chữ nhật xếp đứng sát nhau như mô giậu; kế đến là phôi nhũ gồm các tế bào hình đa giác, bên trong chứa rất nhiều giọt dầu béo.

Bột

Bột quả có màu xám đen (quả già) hoặc màu nâu đen (quả chín), không có xơ, mùi hăng, vị the.

Mảnh vỏ quả ngoài có mang lỗ khí; mảnh mô mềm của vỏ quả giữa thường có chứa tinh thể calci oxalat hình kim; tinh thể calci oxalat hình kim rời hay tụ thành bó rất nhiều; giọt dầu béo tròn, chiết quang; mảnh mạch vạch, mạch điểm rất ít; mảnh vỏ hạt gồm các tế bào có dạng giống sợi dài xếp song song, dính thành đám nhiều hay ít; mảnh phôi nhũ gồm tế bào hình đa giác chứa nhiều giọt dầu béo.

Định tính

A. Dùng phần dịch lọc còn lại trong phần xác định hàm lượng chất chiết được để làm phản ứng định tính. Nhỏ vài giọt dịch lọc lên giấy lọc, để khô, nhỏ tiếp vài giọt dịch lọc, để khô. Soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, vết dịch lọc có phát quang màu xanh dương.

Lấy khoảng 2 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, cô cách thủy còn khoảng 1 ml, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT), xuất hiện màu đỏ nâu.

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm khoảng 2 ml *acid hydrocloric* (TT) nhẹ nhàng trên thành ống nghiệm để tạo thành hai lớp. Nhúng ống nghiệm vào nước nóng hơn 95 °C khoảng 30 giây, xuất hiện vòng màu xanh lá ở mặt phân cách, loang dần lên lớp trên.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G60F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Benzen - ethyl acetat - acid formic (80 : 19 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu khô, thêm 30 ml *ethanol* 96 % (TT) hoặc 20 g dược liệu tươi đã nghiền nhỏ, thêm 80 ml *ethanol* 96 % (TT). Đun hồi lưu cách thủy trong 10 phút. Lọc lấy dịch lọc. Cô cách thủy đến

cần, hòa cần trong *benzen* (TT) để được khoảng 1 ml dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 3 g bột quả Nhàu khô (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ethanol* 96 % (TT) hoặc lấy 20 g quả nhàu tươi (mẫu chuẩn) đã nghiền nhỏ, thêm 80 ml *ethanol* 96 % (TT). Tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin - acid sulfuric* (TT). Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong khoảng 5 phút.

Trên sắc đồ của dung dịch thử phải có nhiều hơn 5 vết màu tím hay xanh tím, trong đó có hai vết khá to, màu tím đậm có giá trị R_f ứng với khoảng $0,4 \pm 0,05$; $0,8 \pm 0,05$ và phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tỷ lệ hạt: Không quá 30,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 17,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Sử dụng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi. Dùng 5 g dược liệu; sấy cần ở 100 °C đến khối lượng không đổi.

Chế biến

Thu hoạch quả quanh năm, khi quả già hoặc sắp chín, rửa sạch, cắt thành từng khoanh tròn dày khoảng 3 mm đến 5 mm, phơi trong bóng râm, nơi thoáng gió hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, trong bao bì kín.

Tính vị, quy kinh

Vị chất. Vào kinh thận, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Nhuận tràng, lợi tiểu, điều kinh, hoạt huyết. Chủ trị: Táo bón, tiểu tiện không thông, điều kinh, hạ sốt, chữa ho, hen; còn dùng với tính chất tăng cường miễn dịch, tăng sức đề kháng cho cơ thể.

Liều lượng, cách dùng

Ngày dùng từ 12 g đến 16 g, dạng thuốc sắc (chứa cao huyết áp), hoặc ngâm rượu.

NHÀU (RỄ)***Radix Morindae citrifoliae***

Rễ cắt ngắn hoặc thái phiến phơi hay sấy khô của cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.), họ Cà phê (*Rubiaceae*).

Mô tả

Dược liệu là từng đoạn rễ dài ngắn, to nhỏ không đều. Mặt ngoài màu vàng nâu nhạt có nhiều nếp nhăn dọc và lớp bần bong ra. Mặt bẻ lõm chõm không đều, mặt cắt ngang có màu vàng. Cũng có thể là phiến mỏng màu vàng sẫm.

Vi phẫu

Mặt cắt ngang rễ hình tròn, từ ngoài vào trong có: lớp bần gồm 2 đến 3 hàng tế bào hình chữ nhật xếp thành dãy đồng tâm. Mô mềm gồm những tế bào thành mỏng hình nhiều cạnh không đều. Trong mô mềm có tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình kim và có những đám sợi. Libe tạo thành vòng bao quanh gỗ. Tầng phát sinh libe-gỗ, mạch gỗ nằm rải rác trong mô gỗ.

Bột

Bột có màu vàng sẫm. Quan sát dưới kính hiển thấy: mảnh bần, hạt tinh bột đứng riêng lẻ, có hạt kép đôi, kép ba. Sợi đứng riêng lẻ hay tụ lại thành bó. Tinh thể calci oxalat hình kim. Mảnh mạch điểm, mạch mạng.

Định tính

A. Lấy 0,2 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml *cloroform* (TT), lắc mạnh trong 2 phút, lọc vào bình gạn nhỏ, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 %* (TT), lắc đều, để yên, lớp dung dịch kiềm phía trên có màu tím đỏ.

B. Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu cho vào một chén sứ, hơi nóng nhẹ trên ngọn lửa đèn cồn và đảo đều cho bay hết hơi nước. Sau đó đập lên chén sứ một phiến kính và đặt lên phiến kính ít bông đã thấm nước lạnh rồi đốt mạnh trong 5 phút. Lấy tấm kính ra soi dưới kính hiển vi, sẽ thấy những tinh thể hình kim màu vàng. Nhỏ lên tinh thể một giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 %* (TT), sẽ xuất hiện màu hồng tím.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Benzen - ethyl acetat - acid formic (75 : 25 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu vào ống nghiệm, thêm 5 ml *cloroform* (TT), lắc mạnh trong 2 phút, lọc lấy dịch lọc đem cô trên cách thủy tới gần khô, hòa tan cần trong 1 ml *cloroform* (TT) dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột rễ Nhàu (mẫu chuẩn), tiến hành chiết tương tự như đối với mẫu thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên: Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng, hiện màu

bằng hơi *amoniac đậm đặc* (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết đạt được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Đào rễ về rửa sạch đất cát, chặt thành khúc nhỏ đem phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh ẩm, mốc, mọt.

Tính vị, qui kinh

Vị chất, tính bình. Vào kinh thận, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Trừ phong thấp, nhuận tràng, bình can giáng nghịch. Chủ trị: Đau nhức xương khớp, huyết áp cao, phụ nữ sau khi sinh yếu mệt; còn dùng với tính chất tăng cường miễn dịch, tăng sức đề kháng cho cơ thể.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 30 g đến 40 g. Dạng thuốc sắc, ngâm rượu.

NHÂN SÂM (RỄ)***Radix Ginseng***

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Nhân sâm (*Panax ginseng* C.A.Mey), họ Nhân sâm (*Araliaceae*). Sâm trồng gọi là viên sâm, sâm mọc hoang gọi là sơn sâm.

Mô tả

Viên sâm: Sâm trồng, phơi hoặc sấy khô; rễ cái có hình thoi hoặc hình trụ tròn, dài khoảng 3 cm đến 15 cm, đường kính 1 cm đến 2 cm, mặt ngoài màu vàng hơi xám, phần trên hoặc toàn bộ rễ có nếp nhăn dọc rõ, có khía vân ngang, thô, không liên tục, rải rác và nông. phần dưới có 2 đến 3 rễ nhánh và nhiều rễ con nhỏ, dài, thường có mẫu dạng củ nhỏ không rõ. Thân rễ (Lô đầu) sát ở đầu rễ, dài 1 cm đến 4 cm, đường kính 0,3 cm đến 1,5 cm, thường cong và co lại, có rễ phụ (gọi là Đinh) và có vết sẹo thân, tròn, lõm, thưa (gọi là Lô uyển). Chất tương đối cứng, mặt bẻ màu trắng hơi vàng, có tinh bột rõ; tầng phát sinh vòng tròn, màu vàng hơi nâu; vỏ có ống tiết nhựa, dạng điểm, màu vàng nâu và những kẽ nứt dạng xuyên tâm. Mùi thơm đặc trưng, vị hơi đắng và ngọt.

Hồng sâm: Hấp, sấy và phơi khô rễ viên sâm thu được Hồng sâm.

Son sâm: Nhân sâm mọc hoang, phơi hay sấy khô. Dược liệu là rễ cái, dài bằng hoặc ngắn hơn thân rễ; có hình chữ V, hình thoi hoặc hình trụ, dài 2 cm đến 10 cm; mặt ngoài màu vàng hơi xám, có vân nhăn dọc, đầu trên có các vòng vân ngang, trũng sâu, dày đặc; thường có 2 rễ nhánh; các rễ con trông rõ ràng, mảnh dẻ, nhỏ sắp xếp có thứ tự; có mấu nổi lên rõ gọi là “mấu hạt trân châu”. Thân rễ mảnh dẻ, nhỏ, dài; bộ phận trên có các vết sẹo thân, dày đặc, các rễ phụ tương đối dày đặc, trông tựa như hình hạt táo.

Vi phẫu

Mặt cắt ngang: Tầng bản có một số hàng tế bào. Vỏ hẹp; phía ngoài libe có khe nứt, phía trong libe có tế bào mô mềm, sắp xếp tương đối dày hoặc rải rác, với những ống nhựa chứa chất tiết màu vàng. Tầng phát sinh hình vòng tròn; tia gỗ rộng, các mạch rải rác, đơn hoặc tụ hợp lại, xếp thành dãy xuyên tâm, gián đoạn, đôi khi có kèm theo các sợi không hóa gỗ; tế bào mô mềm có chứa những cụm tinh thể calci oxalat.

Bột

Bột viên sâm: Màu trắng hơi vàng, mảnh vụn ống nhựa dễ nhìn thấy, chứa chất tiết dạng khối, màu vàng. Cụm tinh thể calci oxalat có góc nhọn đường kính từ 20 µm đến 68 µm. Tế bào bản gần hình vuông, hoặc hình nhiều cạnh, thành mỏng, hơi nhăn. Các mạch hình vân lưới và hình thang, đường kính 10 µm đến 56 µm. Khá nhiều hạt tinh bột, hạt đơn gần hình cầu, hình bán nguyệt hoặc hình nhiều cạnh, không đều; đường kính 4 µm đến 20 µm, rốn dạng điểm hoặc dạng khe; hạt kép do 2 hạt đến 6 hạt đơn hợp thành.

Vi phẫu và bột của Hồng sâm: Giống như đã mô tả ở trên, trừ đặc điểm hạt tinh bột.

Định tính

A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ethanol* 96 % (TT), lắc 5 phút; lọc. Lấy một ít dịch lọc, bốc hơi đến gần khô; nhỏ giọt vào cốc *dung dịch cloroform bão hòa stibi tricolorid* (TT), rồi bốc hơi đến khô, sẽ có màu tím.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel* G.

Dung môi khai triển: *Cloroform - ethyl acetat - methanol - nước* (15 : 40 : 22 : 10), lấy lớp dưới.

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 40 ml *cloroform* (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 1 giờ, loại bỏ dịch *cloroform*, làm khô bã dược liệu. Làm ẩm bã dược liệu bằng 0,5 ml *nước*, sau đó thêm 10 ml *n-butanol bão hòa nước* (TT), lắc siêu âm 30 phút; gạn lấy dịch chiết *butanol*, thêm 3 thể tích *amoniac đậm đặc* (TT), lắc đều rồi để yên cho tách lớp. Gạn lấy lớp trên, bốc hơi đến khô, hòa tan căn trong 1 ml *methanol* (TT) được *dung dịch thử*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Nhân sâm (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như đối với *dung dịch thử* được *dung dịch đối chiếu* dược liệu.

Hòa tan các chuẩn *ginsenosid* Rb₁, Re, Rf và Rg₁ trong *methanol* (TT) để được *dung dịch chuẩn* hỗn hợp có nồng độ mỗi chuẩn khoảng 2 mg/ml.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl đến 2 µl mỗi *dung dịch* trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol* (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C trong vài phút, quan sát dưới ánh sáng thường và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ, *dung dịch thử* phải có các vết hoặc các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết hoặc các vết phát quang của các *dung dịch đối chiếu*.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Tiến hành chạy sắc ký theo chương trình ở bảng sau:

Thời gian (min)	% Acetonitril (tt/tt)	% Nước (tt/tt)
0 - 35	19	81
35 - 55	19→29	81→71
55 - 70	29	71
70 - 100	29→40	71→60

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu (rây qua rây có cỡ mắt rây 0,25 mm) vào túi giấy lọc rồi đặt vào bình chiết Soxhlet, thêm 40 ml *cloroform* (TT), đun 3 giờ hồi lưu trên cách thủy, để nguội, loại bỏ lớp *cloroform*, để bay hơi hoàn toàn *dung môi* ra khỏi căn. Chuyển căn và túi giấy lọc đựng căn sang bình nón 100 ml. Thêm chính xác 50 ml *n-butanol đã bão hòa nước* (TT), đập nút và để yên qua đêm, lắc siêu âm trong 30 phút, lọc. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc, bốc hơi đến khô, hòa tan căn trong *methanol* (TT) rồi chuyển vào bình định mức 5 ml, thêm *methanol* (TT) vừa đủ và trộn đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác các chuẩn *ginsenosid* Rg₁, Re, Rf và Rb₁ và hòa tan trong *methanol* (TT) để được *dung dịch chuẩn* hỗn hợp có nồng độ mỗi chuẩn khoảng 0,2 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 203 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch chuẩn, tính toán số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic chuẩn ginsenosid Rg₁ phải không được dưới 6000.

Tiêm lần lượt dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của các chuẩn, tính hàm lượng của các ginsenosid Rg₁, Re, và Rb₁ trong dược liệu.

Dược liệu phải chứa không dưới 0,3 % tổng hàm lượng của ginsenosid Rg₁ (C₄₂H₇₂O₁₄) và ginsenosid R_e (C₄₈H₈₂O₁₈); và không dưới 0,2 % hàm lượng ginsenosid Rb₁ (C₅₄H₉₂O₂₃), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thường thu hoạch Nhân sâm vào mùa thu (tháng 9 đến tháng 10), ở những cây trồng từ 4 năm trở lên, rửa sạch, phơi nắng nhẹ, hoặc sấy nhẹ đến khô. Cũng có khi chế bằng cách đồ rồi ép để được hồng sâm.

Bào chế

Viên sâm: Ủ mềm, thái phiến mỏng, phơi khô.

Son sâm: Khi dùng tán thành bột hoặc giã nát, hay phân ra thành miếng nhỏ.

Bảo quản

Đựng trong hộp kín, để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, khô, bình. Vào kinh tỳ, phế, tâm.

Công năng, chủ trị

Đại bổ nguyên khí, ích huyết, kiện tỳ ích phế, sinh tân, an thần ích trí. Chủ trị: Khí hư muốn thoát, chân tay lạnh, mạch vi, tỳ hư, kém ăn, phế hư ho suyễn; tân dịch thương tổn, miệng khát nước, nội nhiệt tiêu khát, đái tháo, bệnh lâu ngày gây yếu, tâm hồi hộp, suy tim kiệt sức, hay choáng ngất.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 10 g. Dạng thuốc hãm hoặc lấy dịch chiết bằng cách: Thái lát mỏng cho vào chén sứ, thêm ít nước, đun nắp, đun cách thủy đến khi chiết hết mùi vị.

Kiêng kỵ

Không được dùng phối hợp với Lê lô, Ngũ linh chi.

NHÂN TRẦN

Herba Adenosmatis caerulei

Thân, cành mang lá và hoa đã phơi hay sấy khô của cây Nhân trần (*Adenosma caeruleum* R.Br.), họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae).

Mô tả

Thân hình trụ, rỗng ruột, màu nâu đen, có lông nhỏ, mịn. Lá mọc đối, nhẵn nhéo, hình trái xoan, dài 3,5 cm

đến 4,5 cm, rộng 2 cm đến 3 cm. Mặt trên lá màu nâu sẫm, mặt dưới màu nâu nhạt, hai mặt đều có lông. Mép lá khía răng cưa tù. Gân lá hình lông chim. Cuống lá dài 0,3 cm đến 0,5 cm. Cụm hoa là chùm hoặc bông ở kẽ lá. Cánh hoa thường rụng, còn sót lá bắc và đài xẻ 5 thùy. Quả nang, nhiều hạt nhỏ (ít gặp). Dược liệu có mùi thơm nhẹ, vị cay mát, hơi đắng, hơi ngọt.

Vị phẫu

Lá: Biểu bì trên và dưới mang lông che chở đa bào một dãy, rải rác ở biểu bì dưới có lông tiết và lỗ khí. Mô dày góc nằm sát biểu bì trên của phần gân giữa. Bó libe - gỗ hình cung nằm giữa gân lá, gồm cung libe ở phía dưới, cung gỗ ở phía trên. Mô mềm gỗ có thành hóa gỗ. Dưới bó libe - gỗ có cung mô cứng (từng đám 3 đến 6 tế bào hay từng tế bào riêng lẻ). Mô giậu, gồm một lớp tế bào hình chữ nhật xếp thẳng góc với tế bào biểu bì trên.

Thân: Mặt cắt thân tròn. Biểu bì gồm lớp tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn, mang lông che chở đa bào và lông tiết. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình đa giác, thành mỏng. Nội bì rõ, gồm một lớp tế bào hình chữ nhật nhỏ, xếp đều đặn. Libe mỏng, tế bào libe nhỏ. Trong libe rải rác có các đám sợi. Tầng phát sinh libe - gỗ. Bó gỗ có các mạch gỗ thành dãy, xếp thành dãy xuyên tâm trong mô mềm gỗ. Mô mềm ruột gồm tế bào hình đa giác gần tròn, thành mỏng.

Bột

Mảnh biểu bì lá gồm tế bào thành mỏng ngoằn ngoèo, mang lông che chở, riêng mảnh biểu bì dưới có lông tiết và lỗ khí. Lông che chở đa bào một dãy hoặc lông ngắn, hình nón có 1 đến 2 tế bào. Lông tiết cũng gồm hai loại, loại đầu đơn bào hình trái xoan hay hình phễu, chân đa bào một dãy và loại đầu đa bào hình cầu (thường là 8 tế bào), chân ngắn đơn bào. Mảnh biểu bì thân gồm tế bào hình chữ nhật thành mỏng, mang lông che chở đa bào hay lông tiết. Tế bào mô cứng hình chữ nhật, thành dày, khoang rộng, ống trao đổi rõ. Tế bào sợi dài, thành hơi dày, khoang rộng, đứng riêng lẻ hay tập trung thành bó. Mảnh mạch xoắn. Mảnh đài hoa gồm các tế bào thành mỏng, ngoằn ngoèo, rải rác có mang lông tiết.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ether dầu hòa (30 °C đến 60 °C) - toluen - ethyl acetat (100 : 15 : 5).

Dung dịch thử: Đun sôi 5 g dược liệu đã được cắt nhỏ với 50 ml nước, cất kéo hơi nước trong bộ cất tinh dầu khoảng 2 giờ, hứng lấy 10 ml dịch chiết. Để nguội, lắc với 2 ml toluen (TT), gạn lấy phần dịch chiết toluen làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan cineol chuẩn trong cloroform (TT) để được dung dịch chứa 2µl/ml.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanilin trong ethanol 96 % (TT)* (chỉ pha trước khi dùng), sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 phút. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 4 vết chính có màu từ xanh đến xanh tím, trong đó có một vết có cùng màu và giá trị R_f với vết của cineol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ để thử.

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 40 g dược liệu đã cắt nhỏ. Cát kéo hơi nước với 200 ml nước trong 3 giờ. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 0,35 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái khi cây đang ra hoa, phơi trong bóng râm hay sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô. Tránh sấy quá nóng làm bay mất tinh dầu.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, qui kinh

Khô, tân, vi hàn. Vào các kinh can đờm.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt lợi thấp thoái hoàng. Chủ trị: Viêm gan vàng da, viêm túi mật.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 15 g, dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài: Lượng thích hợp, sắc lấy nước rửa hoặc giã nhỏ đắp nơi đau.

NHÂN TRẦN TÍA

Herba Adenosmatis bracteosi

Thân, cành mang lá và hoa đã phơi hay sấy khô của cây Nhân trần tía (còn gọi là Nhân trần Tây Ninh) (*Adenosma bracteosum* Bonati), họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae).

Mô tả

Thân mảnh có 4 cánh ở 4 góc, nhẵn, màu tía. Lá thuôn dài 2 cm đến 4 cm, rộng 0,6 cm đến 0,9 cm mép lá có răng cưa, đầu lá nhọn. Lá mỏng thường cuộn lại và dễ rụng. Cụm hoa là chùy, đặc, dài 1,5 cm đến 5 cm. Cánh hoa màu tím nhạt, thường rụng, chỉ còn lại lá bắc và đài. Quả nang dài 2 mm, hạt nhỏ li ti màu đen hay màu nâu tía.

Dược liệu có mùi thơm nồng, vị cay mát và hơi đắng.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - toluen - ethyl acetat (100 : 15 : 5).

Dung dịch thử: Đun sôi 5 g dược liệu đã được cắt nhỏ với 50 ml nước, cất kéo hơi nước trong bộ cất tinh dầu khoảng 2 giờ, hứng lấy 10 ml dịch chiết. Để nguội, lắc với 2 ml toluen (TT), gạn lấy phần dịch chiết toluen làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g Nhân trần tía (mẫu chuẩn) tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên, sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanilin trong ethanol 96 % (TT)* (chỉ pha trước khi dùng), sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 phút. Sắc ký đồ dung dịch thử phải có các vết màu từ xanh đến xanh tím, có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ để thử.

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Định lượng tinh dầu

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 40 g dược liệu đã cắt nhỏ, thêm 200 ml nước, cất trong 3 giờ. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 0,25 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái khi cây đang ra hoa, phơi hoặc sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, qui kinh; Công năng, chủ trị; Liều lượng, cách dùng

Xem chuyên luận Nhân trần.

NHỮ HƯƠNG (Gôm nhựa)***Gummi resina Olibanum***

Chất gôm nhựa lấy từ các cây Nhũ hương (*Boswellia carterii* Birdw.), họ Trám (*Burseraceae*).

Mô tả

Nhựa cây khô có dạng hạt hình cầu nhỏ, dạng giọt nước hoặc khối nhỏ không đều dài 0,5 mm đến 3 mm, có khi dính thành cục, màu vàng nhạt và thường có pha màu lục nhạt, màu lam hoặc màu đỏ nâu, trong mờ, mặt ngoài có một tầng bụi phấn màu trắng, sau khi bỏ lớp bụi phấn mặt ngoài vẫn không sáng bóng. Chất cứng giòn, mặt gãy dạng sập không sáng bóng, cũng có một số nhỏ mặt gãy sáng bóng dạng pha lê. Mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng. Nhai được liệu lúc đầu vỡ vụn, sau đó nhanh chóng mềm thành khối keo, nước bọt thành dạng sữa và có cảm giác cay thơm nhẹ.

Định tính

Khi gặp nhiệt được liệu mềm ra, đốt có mùi thơm nhẹ (nhưng không được có mùi tùng hương), bốc khói đen và để lại tro màu đen. Hòa trong nước, nhũ hương cho một dịch lỏng đục như sữa, nhũ hương tan trong một phần ethanol, ether, cloroform.

Phân biệt Nhũ hương thật với chất giả mạo, lẫn tinh dầu thông, côlôphan: Hòa nhũ hương vào *acid acetic* (TT), thêm vài giọt *acid sulfuric* (TT), không được có màu đỏ.

Tro toàn phần

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Vào mùa xuân hoặc mùa hạ có thể thu gom Nhũ hương, tốt nhất là mùa xuân. Thu hoạch Nhũ hương bằng cách: rạch các vết dọc theo cây từ dưới lên, rạch sâu thì lấy được nhựa nhiều, hứng lấy nhựa, lúc nhựa khô lấy về. Nếu nhựa khô rơi xuống đất thường dính tạp chất, phẩm chất kém.

Bào chế

Lấy Nhũ hương sạch, tán bột với Đẳng tâm thảo. Dùng 1 g Đẳng tâm thảo cho 40 g Nhũ hương.

Lấy Nhũ hương sạch, sao nhỏ lửa cho mặt ngoài chảy ra có màu hơi vàng lấy ra để nguội.

Thỏ Nhũ hương (chế dấm): Lấy Nhũ hương sạch cho vào chảo sao nhỏ lửa cho mặt ngoài chảy ra, phun dấm và tiếp tục sao đến khi mặt ngoài sáng trong, lấy ra để nguội. Dùng 0,6 lít dấm cho 10 kg Nhũ hương.

Bảo quản

Trong bao bì kín để nơi khô ráo, tránh mất mùi thơm.

Tính vị, qui kinh

Tân, khô, ôn mùi thơm. Vào kinh tâm, can, tỳ.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết, khử ứ, chỉ thông, tiêu sưng, sinh cơ. Chủ trị: Khí huyết ngưng trệ gây kinh bế, hành kinh đau

bụng, huyết ứ sau sinh đau bụng, ung nhọt, ản chấn (mày đay) do phong hàn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, phối ngũ trong các bài thuốc. Dùng ngoài lượng bột mịn thích hợp đắp vào vết thương.

Kiêng kỵ

Không dùng cho phụ nữ có thai, mụn nhọt đã vỡ, người không có ứ trệ.

NHỤC ĐẬU KHẤU (Hạt)***Semen Myristicae***

Hạt đã phơi khô của cây Nhục đậu khấu (*Myristica fragrans* Houtt.), họ Nhục đậu khấu (*Myristicaceae*).

Mô tả

Hạt hình trứng hoặc hình bầu dục, dài 2 cm đến 3 cm, đường kính 1,5 cm đến 2,5 cm. Mặt ngoài màu nâu tro hoặc vàng xám, có khi phủ phấn trắng, có rãnh dọc, mờ nhạt và nếp nhăn hình mạng lưới không đều. Có rốn ở đầu tù (rốn ở vị trí rẽ mầm) là một điểm lồi tròn, màu nhạt. Hợp điểm lõm và tối, noãn nhân dọc nối hai đầu hạt. Ngoài cùng là lớp vỏ hạt rồi đến lớp ngoại nhũ sát lớp vỏ hạt. Cây mầm nằm trong một khoang rộng. Chất cứng, mặt gãy có vân hoa đá màu vàng nâu, đầu tù. Có thể thấy phôi nhũ, khô, nhiều dầu, mùi thơm nồng, vị cay.

Vi phẫu

Ngoài cùng là lớp vỏ hạt, tế bào có thành hơi dày. Lớp ngoại nhũ sát lớp vỏ hạt, tế bào nhỏ có chứa chất màu nâu và xếp kéo dài theo hướng tiếp tuyến. Rải rác có những bó mạch, những tinh thể calci oxalat hình nhiều cạnh trong phần vỏ. Phần ngoại nhũ ăn sâu vào nội nhũ, phần nội nhũ gồm các tế bào to nhỏ không đều, chứa hạt tinh bột, giọt dầu và giọt aleuron. Hạt tinh bột đơn có đường kính 10 µm đến 20 µm, có rốn rõ, thường tụ lại thành đám 2 hạt đến 6 hạt, đường kính 25 µm đến 30 µm.

Bột

Màu nâu đỏ đến nâu xám, mùi thơm hắc, vị cay đắng. Có nhiều mảnh nội nhũ có chứa hạt tinh bột, giọt dầu và hạt aleuron. Mảnh vỏ hạt đôi khi có chứa tinh thể calci oxalat hình nhiều cạnh, Rải rác có tinh thể calci oxalat tách rời. Giọt dầu. Mảnh tế bào ngoại nhũ chứa chất màu nâu. Mảnh mạch ít gặp. Tinh bột đa số là hạt đơn, đường kính 25 µm đến 30 µm, điểm rốn rõ.

Định tính

A. Cắt vi phẫu rồi nhuộm bằng *dung dịch iod* (TT), nhỏ *glycerin* (TT) lên vi phẫu, quan sát ngay dưới kính hiển vi, thấy hạt aleuron tương đối lớn giữa các hạt tinh bột màu xanh lam. Nếu thay *glycerin* bằng *cloral*

hydrat (TT), quan sát thấy dầu béo hiện ra dưới dạng khối phiến, dạng lát vảy, hơi nóng lập tức biến thành giọt dầu.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat (8 : 2).

Dung dịch thử: Hòa tan tinh dầu của dược liệu thu được ở phần định lượng trong *cloroform (TT)* để dung dịch chứa 0,2 ml tinh dầu trong 1 ml.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan tinh dầu của Nhục đậu khấu (mẫu chuẩn) trong *cloroform (TT)* để được dung dịch chứa 0,2 ml tinh dầu trong 1 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT)*, sấy ở 105 °C cho đến khi các vết hiện rõ. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 3,150 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 20 g bột dược liệu. Dược liệu phải chứa ít nhất 6,0 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái vào mùa hè và mùa thu, hái quả nở, bóc bỏ vỏ, tách riêng phần thịt quả và hạt. Hạt phơi và sấy khô, đập lấy nhân hạt.

Bào chế

Nhục đậu khấu sống: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Nhục đậu khấu lùi (ôi Nhục đậu khấu): Lấy bột mịn hòa vào lượng nước thích hợp, cho Nhục đậu khấu vào khuấy đều để tạo lớp áo hoặc tắm ẩm Nhục đậu khấu cho vào nồi bao, vừa quay nồi bao vừa cho bột mịn và phun nước và hơi nóng nhẹ để tạo 3 lớp đến 4 lớp bao bột mịn. Cho Nhục đậu khấu đã chuẩn bị ở trên vào chảo cát hoặc Hoạt thạch nóng, sao cho đến khi lớp Bột mịn có màu xém, sàng bỏ cát hoặc Hoạt thạch, bỏ vỏ Bột mịn và để nguội. Dùng 50 kg Hoạt thạch cho 100 kg Nhục đậu khấu.

Bảo quản

Nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Tân, ôn. Quy vào kinh tỳ, vị, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Ôn trung, hành khí, sáp trường, chỉ tả. Chủ trị: Cửu lỵ (ỉa chảy lâu ngày) do tỳ vị hư hàn, đau trướng bụng và đau thượng vị, biếng ăn, nôn mửa.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Nhiệt tả, nhiệt lỵ không dùng.

NHỤC THUNG DUNG (Thân)

Herba Cistanches

Thân thảo, nạc, có chất thịt, có vảy, đã phơi khô của cây Nhục thung dung (*Cistanche deserticola* Y.C.Ma), họ Lệ dương (Orobanchaceae).

Mô tả

Dược liệu hình trụ dẹt, hơi cong, dài 3 cm đến 15 cm, đường kính 2 cm đến 8 cm. Mặt ngoài màu nâu hoặc nâu xám, phủ đầy những phiến vảy, sắp xếp như ngói lợp, đỉnh vảy nhọn thường bị gãy. Chất thịt và hơi dẻo, thể nặng, khó bẻ gãy, mặt gãy màu nâu có những đốm nâu nhạt của những bó mạch xếp theo vòng lượn sóng. Mùi nhẹ, vị ngọt hơi đắng.

Định tính

Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 8 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,5 % trong ethanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 10 phút, lọc nóng. Trung hòa dịch lọc bằng *dung dịch amoniac 10 % (TT)* và bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cặn trong 3 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 % (TT)*, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc thêm 1 giọt đến 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, sẽ có kết tủa đỏ cam hay nâu đỏ.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 28,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp ngâm lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 95 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến.

Thu hoạch vào mùa xuân, lấy dược liệu về, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt khúc, phơi khô.

Bào chế

Dược liệu khô, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô.

Từung dung (Chế rượu): Lấy phiến Nhục từung dung sạch, thêm rượu, trộn đều, cho vào trong bình thích hợp, đậy kín, nấu cách thủy hoặc đồ cho ngấm hết rượu, lấy ra, phơi khô. Cứ 10 kg Nhục từung dung dùng 3 lít rượu.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn, ôn. Vào các kinh thận, đại trường.

Công năng, chủ trị

Bổ thận dương, ích tinh huyết, nhuận tràng thông tiện. Chủ trị: Liệt dương, di tinh, khó thụ thai, thất lưng đầu gối đau mỏi, gân xương vô lực, táo bón ở người già, huyết hư tân dịch không đủ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiểm kê

Thận hỏa vượng, táo bón do thực nhiệt, ỉa lỏng do dương hư không nên dùng.

NÚC NÁC (Vỏ thân)***Cortex Oroxyli***

Vỏ thân đã phơi hay sấy khô của cây Núc nác [*Oroxylon indicum* (L.) Vent.], họ Núc nác (Bignoniaceae).

Mô tả

Vỏ cuộn lại thành hình ống hay hình cung, dày 0,6 cm đến 1,3 cm, dài ngắn không nhất định. Mặt ngoài màu vàng nâu nhạt, nhẵn nhéo, có nhiều đường vân dọc, ngang. Mặt trong nhẵn, màu vàng xám hay vàng lục. Mặt bẻ ngang có lớp bản mỏng. Mô mềm vỏ lồi nhô như có nhiều sạn, trong cùng có lớp sợi để tách theo chiều dọc.

Vĩ phẫu

Lớp bản rất dày, gồm 30 lớp đến 40 lớp tế bào hình chữ nhật xếp tương đối đều đặn theo hướng tiếp tuyến, có nhiều chỗ lớp bản nứt rách rất sâu. Mô mềm vỏ gồm tế bào có thành mỏng, hơi kéo dài theo hướng tiếp tuyến, rải rác có nhiều đám mô cứng. Libe cấp 2 rất dày, libe bị các tia tủy cắt ra thành từng nhánh. Tế bào libe thành mỏng xếp đều đặn và bị bẹp từng vòng theo hướng tiếp tuyến. Nhiều đám sợi, tế bào thành dày hóa gỗ, rõ rệt, kết tầng trong libe. Tia ruột rộng, từ 3 đến 5 dãy tế bào hình chữ nhật, xếp theo hướng xuyên tâm, chạy từ tầng sinh libe-gỗ đến mô mềm và tinh thể calci oxalat hình kim rải rác khắp mô mềm vỏ và libe. Tầng sinh libe-gỗ.

Bột

Màu vàng, vị đắng. Soi kính hiển vi thấy: nhiều sợi dài, màu vàng nhạt, thành dày, thành sợi đôi khi có

chỗ lồi đều, có ống trao đổi rõ. Tế bào mô cứng màu vàng, hình nhiều cạnh, thành hơi dày, khoang rộng, ống trao đổi rõ. Rất nhiều tinh thể calci oxalat hình kim, hai đầu thuôn nhọn hoặc vuông đường kính 2 µm đến 4 µm nằm rải rác hoặc tập trung thành bó. Mảnh bản gồm tế bào hình nhiều cạnh thành dày. Mảnh mô mềm hình đa giác, thường chứa tinh thể calci oxalat hình kim.

Định tính

Lấy 0,5 g bột thô dược liệu vào ống nghiệm, thêm 5 ml *ethanol* (TT), lắc. Đun cách thủy 5 phút đến 10 phút, lọc. Lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 3 giọt *acid hydrochloric* (TT), thêm một ít bột *magnesi* (TT), sẽ có màu vàng cam.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 %* (TT), dung dịch sẽ có màu xanh nâu hay xanh đen.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm từ từ theo thành ống 0,5 ml *acid sulfuric* (TT), sẽ thấy chia làm 2 lớp, lớp phía dưới có màu nâu, để yên màu nâu càng rõ.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 %* (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hái quanh năm, đẽo lấy phần vỏ phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, cạo bỏ lớp bản, rửa sạch, thái phiến dài 2 cm đến 5 cm, phơi khô, hoặc sao nhỏ lửa cho đến khi bề mặt dược liệu có màu vàng.

Bảo quản

Nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn. Quy vào các kinh, bàng quang, tỳ.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, lợi thấp. Chủ trị: Hoàng đản, mẩn ngứa dị ứng, viêm họng, đái buốt, đái đục, đái đỏ do bàng quang thấp nhiệt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 2 g đến 3 g, dạng thuốc bột hoặc từ 8 g đến 16 g dạng thuốc sắc.

Kiểm kê

Người hư hàn gây đau bụng, đầy bụng tiêu chảy không dùng.

Ô ĐÀU (Rễ củ)***Radix Aconiti***

Ô đầu là rễ củ chính đã phơi hay sấy khô của cây Ô đầu (*Aconitum fortunei* Hemsl., hoặc *Aconitum carmichaeli* Debx.), họ Hoàng liên (*Ranunculaceae*).

Mô tả

Rễ củ hình củ ấu hay hình con quay, dài 3 cm đến 5 cm, đường kính 1 cm đến 2,5 cm, phía trên củ có vết tích của gốc thân. Mặt ngoài màu nâu hay nâu đen, có nhiều nếp nhăn dọc và vết tích của rễ con đã cắt. Chất cứng chắc, rắn và dai, khó bẻ, vết cắt màu nâu xám nhạt. Vị nhạt, sau hơi chát và hơi tê lưỡi.

Vi phẫu

Cắt ngang phần chóp củ thấy có: Lớp vỏ màu nâu. Mô mềm vỏ gồm 3 đến 4 hàng tế bào thành mỏng, hình nhiều cạnh, dẹt, nằm ngang. Nội bì gồm 1 hàng tế bào rõ. Trụ bì gồm 2 đến 3 hàng tế bào xếp đều đặn, sát với nội bì. Trong mô mềm rải rác có nhiều đám mạch rây và cả hạt tinh bột. Libe khá phát triển và bị các tia ruột chia cắt ra thành từng dãy xuyên tâm. Tầng sinh libe-gỗ gồm 1 đến 2 hàng tế bào nhỏ. Gỗ cấp 2 xếp thành những hình chữ V. Tia ruột rộng và mô mềm ruột phát triển.

Bột

Mảnh bản màu nâu, thành dày. Mảnh mô mềm gồm tế bào hình nhiều cạnh, thành mỏng, trong chứa các hạt tinh bột. Các hạt tinh bột nhỏ, hình đĩa, hình chuông hay hình đa giác, đường kính 2 µm đến 25 µm, đứng riêng lẻ hay kép đôi, kép ba. Mảnh mạch mạng, mạch vạch. Tế bào mô cứng thành dày. Rải rác có tinh thể calci oxalat hình kim hay hình khối. Sợi dài.

Định tính

A. Cho khoảng 2 g bột dược liệu vào một bình nón có dung tích 50 ml, có nút mài, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc* (TT). Sau 10 phút thêm 20 ml *ether* (TT), lắc đều, nút kín và để yên 30 phút, thỉnh thoảng lắc. Gạn lấy lớp *ether*, làm khan bằng *natri sufat khan* (TT), lọc và bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới khô. Hòa tan căn với 5 ml *dung dịch acid sulfuric loãng* (TT), được dung dịch A.

Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer* (TT) sẽ xuất hiện tủa trắng.

Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 2 giọt *thuốc thử Boucharlat* (TT) sẽ xuất hiện tủa nâu.

Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff* (TT) sẽ xuất hiện tủa đỏ cam.

Lấy 2 ml dung dịch A, đun trong cách thủy sôi 5 phút, thêm vài tinh thể *resorcin* (TT), tiếp tục đun trong 20 phút sẽ xuất hiện màu đỏ với huỳnh quang xanh.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc* (TT), để yên 20 phút, chiết bằng *cloroform* (TT) trong bình Soxhlet đến kiệt alcaloid. Lấy dịch chiết, cất thu hồi dung môi. Căn còn lại hòa tan trong 2 ml *ethanol* (TT), được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan aconitin chuẩn trong *ethanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để bay hết hơi dung môi ở nhiệt độ phòng. Phun *thuốc thử Dragendorff* (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và cùng giá trị R_f với vết aconitin của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu đã xác định độ ẩm, cho vào bình nón có nút mài dung tích 250 ml. Thêm 50 ml hỗn hợp *ether - cloroform* (3 : 1) và 4 ml *amoniac đậm đặc* (TT). Đậy nút, lắc kỹ, để qua đêm, gạn, lấy dịch lọc. Cho vào bã 50 ml hỗn hợp *ether - cloroform* (3 : 1), lắc kỹ, để 1 giờ, lọc, thu dịch lọc. Rửa bã 4 lần, mỗi lần với 15 ml hỗn hợp *ether - cloroform* (3 : 1), thu dịch rửa. Gộp dịch lọc và dịch rửa. Bốc hơi cách thủy ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C. Hòa tan căn bằng 5 ml *ethanol* (TT). Thêm chính xác 15 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N* (CĐ) và 15 ml *nước cất* mới đun sôi để nguội, 3 giọt *đỏ methyl* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N* (CĐ) đến khi xuất hiện màu vàng.

1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N* (CĐ) tương đương với 12,9 mg alcaloid toàn phần tính theo aconitin ($C_{34}H_{47}O_{11}N$).

Hàm lượng phần trăm alcaloid toàn phần (X %) của dược liệu khô kiệt tính theo công thức:

$$X \% = \frac{(15 - n) \times 12,9}{p}$$

Trong đó:

p là khối lượng dược liệu khô kiệt (g);

n là số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N* (CĐ) đã dùng.

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,6 % alcaloid toàn phần tính theo aconitin ($C_{34}H_{47}O_{11}N$).

Chế biến

Thu hoạch từ tháng 6 đến tháng 8, trước khi hoa nở, đào lấy rễ củ, bỏ rễ con, rễ tua, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, tránh sâu mọt.

Tính vị, qui kinh

Tân, khô, nhiệt, rất độc. Vào 12 kinh, chủ yếu các kinh tâm can, thận tỳ.

Công năng, chủ trị

Khu phong, trừ thấp tý, ôn kinh chỉ thống. Chủ trị: Dùng trị đau khớp, tê mỏi cơ.

Cách dùng, liều lượng

Dùng ngoài xoa bóp dưới dạng thuốc ngâm rượu. Không được uống.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai, trẻ em không được dùng.

Ô DƯỢC (RỄ)***Radix Linderae***

Rễ phơi hay sấy khô của cây Ô dược [*Lindera aggregata* (Sims) Kosterm.], họ Long não (Lauraceae).

Mô tả

Hình thoi, hơi cong, có chỗ phình to ở giữa, hai đầu hơi lõm vào thành hình chuôi hạt, dài 6 cm đến 15 cm, đường kính chỗ phình to 1 cm đến 3 cm, mặt ngoài màu vàng nâu, có vết nhăn dọc, nhỏ và còn lại một ít vết tích của rễ con. Chất cứng. Thái lát 2 mm đến 3 mm, mặt cắt ngang có màu trắng vàng hay vàng nâu nhạt, có tia gỗ tỏa ra, có thể nhìn thấy các vòng gỗ hàng năm, màu gỗ phần trung tâm thẫm hơn. Mùi thơm, vị hơi đắng, cay, cảm giác mát lạnh.

Bột

Màu trắng vàng, có nhiều hạt tinh bột, hạt đơn hình cầu hoặc hình trứng, đường kính 4 µm đến 39 µm, rốn hình chữ V, chữ Y hoặc dạng khe; hạt tinh bột kép do 2 hạt đến 4 hạt đơn ghép thành. Sợi gỗ màu vàng nhạt, phần lớn xếp thành bó, đường kính 20 µm đến 30 µm, thành dày khoảng 5 µm có nhiều lỗ. Sợi libe hầu như không có màu, hình thoi dài, phần nhiều rải rác và đơn lẻ, đường kính 15 µm đến 17 µm, thành rất dày, với các thành ống có lỗ không rõ rệt. Những mạch có lỗ ở bờ cạnh, đường kính khoảng 68 µm xếp thành hàng dày sát nhau. Thành tế bào của sợi gỗ hơi dày lên và có lỗ dày đặc. Tế bào dầu hình chữ nhật, chứa chất tiết màu nâu.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel H*.

Dung môi khai triển: *n*-Hexan - ethyl acetat - acetone (9 : 1 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu thô, ngâm 30 phút trong 30 ml ether dầu hòa (30 °C đến 60 °C), siêu âm 10 phút (duy trì ở nhiệt độ 30 °C trong bình

cách thủy). Lọc. Lấy dịch lọc bay hơi dung môi đến cạn. Hòa tan cặn trong 1 ml ethyl acetat (TT) làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan linderalacton chuẩn trong ethyl acetat (TT) để được dung dịch có chứa 0,75 mg/ml làm dung dịch đối chiếu. Nếu không có chất chuẩn thì dùng 0,5 g Ô dược (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl dung dịch thử và 3 µl dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển xong, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT). Sấy bản mỏng đến khi hiện rõ vết. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với vết của linderalacton trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu hoặc sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với vết của linderalacton.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Rễ già xơ cứng không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch rễ Ô dược quanh năm tốt nhất vào mùa thu đông hay đầu mùa xuân. Loại bỏ tạp chất, bỏ rễ con, rửa sạch, thái lát, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Dược liệu chưa thái lát thì loại bỏ tạp chất, bỏ rễ con, phân loại lớn nhỏ, ủ mềm, thái lát mỏng, phơi hoặc sấy khô.

Ô dược phiên: Rễ rửa sạch, ngâm nước, ủ mềm, thái phiên dài 3 cm đến 5 cm, phơi khô.

Ô dược sao vàng: Ô dược phiên được sao cho đến khi có màu vàng.

Ô dược sao cám: Rang cám đến khi có mùi thơm thì cho Ô dược đã thái phiên vào sao cho đến khi phiên ô dược có màu vàng nhạt. Hoặc có thể tẩm mật ong vào Ô dược phiên rồi đem sao với cám đến khi có màu vàng, mùi thơm, rây bỏ cám.

Ô dược chích rượu (Ô dược 10 kg, rượu 2 kg): Tẩm rượu vào Ô dược đã được thái phiên, để yên 30 phút cho hút hết rượu rồi sao với cám đến khi bề mặt phiên thuốc có màu vàng, rây bỏ cám.

Ô dược chích muối (Ô dược 10 kg, muối ăn 160 g): Ô dược đã thái phiên, tẩm dung dịch nước muối 5 %, để 30 phút cho hút hết nước muối rồi sao với cám đến khi bề mặt phiên thuốc có màu vàng nhạt, rây bỏ cám.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào các kinh phế, tỳ, thận, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Hành khí, chỉ thống, kiện vị tiêu thực, ôn thận, tán hàn. Chủ trị: Bụng trưởng đau, đầy bụng, khí nghịch phát sườn, bụng dưới đau do bàng quang lạnh, di niệu, sán khí, hành kinh đau bụng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán.

Kiêng kỵ

Khí hư, nội nhiệt không nên dùng.

PHÒNG KỶ***Radix Stephaniae tetrandrae*****Phòng kỷ bắc, Phần phòng kỷ**

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Phần phòng kỷ (*Stephania tetrandra* S. Moore), họ Tiết dê (Menispermaceae).

Mô tả

Rễ hình trụ không đều, hoặc hình nửa trụ, thường cong queo, dài 5 cm đến 10 cm, đường kính 1 cm đến 5 cm. Mặt ngoài màu vàng, nơi uốn cong thường có rãnh ngang, trũng sâu, có mấu và mắt gỗ. Thê chất nặng, rắn chắc, mặt bẻ gãy phẳng, màu trắng xám, rải rác có tinh bột. Mùi nhẹ, vị đắng.

Vị phẫu

Lớp bần đôi khi còn sót lại. Trong phần vỏ rải rác có nhóm tế bào đá xếp theo hướng tiếp tuyến. Dải libe tương đối rộng. Tầng phát sinh libe-gỗ là 1 vòng. Gỗ chiếm đại bộ phận với các tia gỗ rộng; mạch thưa, xếp theo hướng xuyên tâm, bên cạnh các mạch có kèm theo các sợi gỗ. Tế bào mô mềm chứa đầy hạt tinh bột và tinh thể calci oxalat hình que nhỏ.

Định tính

A. Lấy khoảng 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*, đun nóng trong 10 phút, lọc. Điều chỉnh dịch lọc đến pH 9 bằng *dung dịch amoniac (TT)*. Chiết dịch lọc với 25 ml *benzen (TT)*. Lấy 5 ml dịch chiết benzen, bốc hơi đến khô, cho thêm vài giọt *thuốc thử sulfomolybdic (TT)* vào căn khô sẽ hiện ra màu tím, chuyển dần thành màu lục, màu lục bần rồi thâm lại.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - aceton - methanol (6 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml ethanol (TT), đun hồi lưu trên cách thủy trong 1 giờ, để nguội, lọc và bốc hơi dịch lọc tới khô. Hòa tan căn trong 5 ml ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Phòng kỷ (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như đối với dung dịch thử.

*Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.*

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Loại xơ nhiều, nhẹ xốp, ít bột, xám đen: Không quá 2,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *methanol (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, đào lấy rễ, rửa sạch, cạo bỏ vỏ ngoài, phơi tái, cắt khúc 5 cm đến 20 cm, rễ nhỏ để nguyên, rễ to bỏ dọc, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, ngâm nước cho mềm, rửa sạch, thái lát dày, phơi khô.

Bảo quản

Đề nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Khổ, hàn. Vào các kinh bàng quang, thận tỳ.

Công năng, chủ trị

Lợi thủy tiêu thũng, khu phong chỉ thống. Chủ trị: Thủy thũng, thấp cước khí, tiểu tiện không thông lợi, thấp chân, nhọt độc, phong thấp tê đau.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 10 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ

Suy nhược hàn tính không nên dùng.

PHÒNG PHONG (RỄ)***Radix Saposhnikoviae divaricatae***

Rễ đã được phơi khô của cây Phòng phong [*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk.], họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Rễ có hình nón hay hình trụ dài, dần thắt nhỏ lại về phía dưới, hơi ngoằn ngoèo, dài 15 cm đến 30 cm,

đường kính 0,5 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu nâu xám, sần sùi với những vân ngang, lớp vỏ ngoài thường bong tróc ra, nhiều nốt bì khổng trắng và những u lồi do vết rỗ con để lại. Phần đầu rễ mang nhiều vân lồi hình vòng cung, đôi khi là những túm gốc cuống lá dạng sợi có màu nâu, dài 2 cm đến 3 cm. Thê chất nhẹ, dễ gãy, vết gãy không đều, vỏ ngoài màu nâu và có vết nứt, lõi màu vàng nhạt. Mùi thơm, vị đặc trưng, hơi ngọt.

Vĩ phẩu

Rễ: lớp bản gồm 5 đến 40 lớp tế bào hình chữ nhật, dài 15 µm đến 50 µm, rộng 7 µm đến 12 µm, thành mỏng. Mô mềm lục bì hẹp gồm 5 đến 7 lớp tế bào chữ nhật dài, có nhiều ống tiết hình bầu dục. Vùng các bó libe có rất nhiều ống tiết có đường kính 35 µm đến 75 µm, ống tiết có hình tròn hay bầu dục, mỗi ống tiết có 4 đến 10 tế bào tiết bao quanh, ống tiết chứa chất tiết màu vàng; các tia libe thường uốn lượn và bị dồn ép ở phần ngoài. Tầng phát sinh libe-gỗ liên tục. Mạch gỗ nhiều, xếp thành tia. Tủy vẫn còn mô mềm với ít ống tiết hay gỗ chiếm tâm.

Bột

Bột có màu nâu nhạt. Soi kính hiển vi thấy: Ống tiết đường kính 17 µm đến 60 µm, chứa chất tiết vàng nâu. Các bó libe-gỗ của gốc cuống lá thường đi kèm các bó sợi. Mạch mạch mạng đường kính 10 µm đến 40 µm. Tế bào mô cứng màu vàng lục, hình bầu dục hay dạng chữ nhật có thành dày.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Benzen - ethyl acetat* (9,5 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 4 g dược liệu vào bình nón, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, ngâm 1 giờ, siêu âm 45 phút, lọc, cô dịch lọc trong cách thủy đến cạn, hòa cạn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Phòng phong (mẫu chuẩn). Tiến hành chiết như với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký xong, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, xuất hiện ít nhất 3 vết phát quang cùng màu sắc và giá trị R_f với dung dịch đối chiếu. Các vết này chuyển sang màu nâu khi tiếp tục phun dung dịch *acid sulfuric (TT)* 10 % trong *ethanol (TT)* và phát quang được khi quan sát ở bước sóng 366 nm.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không được quá 6,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thuốc được thu hoạch vào mùa xuân hay mùa thu khi thân cây có hoa, đào lấy rễ, loại vỏ rễ con và đất, phơi khô.

Bào chế

Loại vỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát và phơi khô.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Tân, cam, ôn. Vào kinh can, phế, vị, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Giải biểu trừ phong hàn, trừ phong thấp, trừ co thắt. Chủ trị: Đau đầu do hàn, mày đay, phong thấp tê đau, uốn ván.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 5 g đến 12 g, thường phối hợp trong các bài thuốc.

PHỤ TỬ

Radix Aconiti lateralis

Phụ tử là rễ củ nhánh đã phơi hay sấy khô của cây Ô đầu (*Aconitum fortunei* Hemsl. hoặc *Aconitum car-michaeli* Debx.), họ Hoàng liên (*Ranunculaceae*).

Mô tả

Rễ củ hình con quay, dài 3,5 cm đến 5 cm, phía trên to, đường kính 1,5 cm đến 2,5 cm, có vết nổi với củ chính, không có vết của thân cây, phía dưới nhỏ dần. Mặt ngoài màu nâu đen, có nhiều nếp nhăn dọc, vòng quanh phần trên củ có một số nhánh lồi lên như cái bướu. Chất cứng chắc, khó bẻ. Vết cắt màu nâu xám. Vị nhạt, sau hơi chát và hơi tê lưỡi.

Vĩ phẩu

Lớp bản màu nâu xám. Mô mềm vỏ gồm 3 đến 4 hàng tế bào thành mỏng. Nội bì gồm một hàng tế bào rõ. Trụ bì gồm 2 đến 3 hàng tế bào đều đặn sát với nội bì. Trong mô mềm rải rác có những đám mạch rây. Tầng phát sinh libe-gỗ gồm 2 hàng tế bào xếp thành vòng khá rõ. Libe khá phát triển, những bó gỗ cấp 2 và cấp 1 xếp thành hình chữ V rộng. Tia ruột rộng và mô mềm ruột phát triển.

Bột

Mảnh bản tế bào hình chữ nhật, thành dày. Mạch mô mềm tế bào gần tròn hoặc hơi dài, thành mỏng, chứa

các hạt tinh bột. Rất nhiều hạt tinh bột hình đĩa, hình chuông, hình nhiều cạnh, đường kính 2 µm đến 25 µm, có nhiều hạt kép đôi, kép ba. Mảnh mạch mạng, mạch vạch.

Định tính

A. Cho khoảng 2 g bột dược liệu vào một bình nón có nút mài, dung tích 50 ml, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc* (TT). Sau 10 phút thêm 20 ml *ether* (TT), lắc đều, nút kín và để yên 30 phút, thỉnh thoảng lắc. Gạn lấy lớp ether, làm khan bằng *natri sulfat khan* (TT), lọc và bốc hơi trên cách thủy tới khô. Hòa tan cần với 5 ml *dung dịch acid sulfuric loãng* (TT). Dùng dịch chiết này để làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch chiết, thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer* (TT) sẽ xuất hiện tủa trắng.

Lấy 1 ml dịch chiết, thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat* (TT) sẽ xuất hiện tủa nâu.

Lấy 1 ml dịch chiết, thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff* (TT) sẽ xuất hiện tủa đỏ cam.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc* (TT), để yên 20 phút, chiết bằng *cloroform* (TT) trong bình Soxhlet đến kiệt alkaloid. Cắt thu hồi dung môi. Cần còn lại hòa tan trong 2 ml *methanol* (TT) dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan aconitin trong *methanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để bay hết hơi dung môi ở nhiệt độ phòng. Phun *thuốc thử Dragendorff* (TT). Trên sắc ký đồ, dịch thử có 7 vết, trong đó phải có vết cùng màu và cùng giá trị R_f với vết aconitin của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng

Không quá 1 phần triệu Pb; 0,1 phần triệu Cd; 0,2 phần triệu Hg, 3,0 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu đã xác định độ ẩm, cho vào bình nón có nút mài dung tích 250 ml. Thêm 50 ml hỗn hợp *ether - cloroform* (3 : 1) và 4 ml *amoniac đậm đặc* (TT). Đậy nút, lắc kỹ, để qua đêm, gạn, lấy dịch lọc. Cho vào bã 50 ml hỗn hợp ether -

cloroform (3 : 1), lắc kỹ, để 1 giờ, lọc, thu dịch lọc. Rửa bã 4 lần, mỗi lần với 15 ml hỗn hợp *ether - cloroform* (3 : 1), thu dịch rửa. Gộp dịch lọc và dịch rửa. Bốc hơi cách thủy ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C. Hòa tan cần bằng 5 ml *ethanol* (TT). Thêm chính xác 15 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N* (CĐ) và 15 ml nước cất mới đun sôi để nguội, 3 giọt *đỏ methyl* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N* (CĐ) đến khi xuất hiện màu vàng.

1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N* (CĐ) tương đương với 12,9 mg alkaloid toàn phần tính theo aconitin ($C_{34}H_{47}O_{11}N$).

Hàm lượng phần trăm alkaloid toàn phần (X %) của dược liệu khô kiệt tính theo công thức:

$$X\% = \frac{(15 - n) \times 12,9}{p}$$

Trong đó:

p là khối lượng dược liệu khô kiệt (g);

n là số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N* (CĐ) đã dùng.

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,6 % alkaloid toàn phần tính theo aconitin ($C_{34}H_{47}O_{11}N$).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, khi trời nắng ráo, đào về, loại bỏ rễ củ chính và rễ tua, thu lấy rễ củ nhánh (Phụ tử), rửa sạch để chế thành Diêm phụ tử, Hắc phụ tử, Bạch phụ tử.

Bào chế

A. *Diêm phụ tử* (con gọi là *Sinh phụ tử*): Rễ củ con loại to, rửa sạch bỏ vào vại, thêm magnesi clorid, muối ăn và nước (cứ 100 kg Phụ tử dùng 40 kg magnesi clorid, 30 kg muối ăn, 60 lít nước), ngâm 10 ngày, lấy ra phơi khô rồi lại cho vào vại. Cứ thế, ngày phơi, tối ngâm (nước ngâm phải sẫm sấp trên củ) cho đến khi muối thấm tới phần giữa củ và củ trở nên cứng chắc, mặt ngoài củ thấy muối kết tinh trắng là được. Trong quá trình ngâm thỉnh thoảng thêm magnesi clorid, muối ăn, nước để đảm bảo nồng độ ban đầu. Trước khi dùng thái lát mỏng 5 mm, rửa nước đến hết vị cay tê, đem phơi hoặc sấy khô.

Dược liệu chưa thái lát có hình nón, dài 3,5 cm đến 5 cm, đường kính 1,5 cm đến 2,5 cm. Bên ngoài màu xám đen được phủ một lớp bột muối nhỏ, dính có vết sọc lõm, bao quanh là các rễ con ngắn hoặc các vết sọc của rễ con. Chất chắc. Mặt cắt ngang có màu nâu xám, viền ngoài có các đường nứt chứa đầy bột muối nhỏ và vòng phát sinh libe-gỗ nhiều cạnh, trong vòng phát sinh libe-gỗ có các bó mạch gỗ tập hợp thành đám không đều. Mùi nhẹ, vị mặn, cay, tê.

B. *Hắc phụ tử*: Rễ củ con loại trung bình, rửa sạch, cho vào vại, thêm magnesi clorid, nước ngâm vại ngày (100 kg Phụ tử dùng 40 kg magnesi clorid, 20 lít

nước). Sau đó luộc chín không còn lõi trắng, lấy ra rửa sạch, để cả vỏ, thái lát mỏng theo chiều dọc, dày khoảng 5 mm. Lại ngâm với magnesi clorid và rửa bằng nước một lần nữa. Cuối cùng thêm đường đỏ và dầu hạt cải để tẩm đến khi lát mỏng có màu nước chè đặc. Sau đó rửa bằng nước đến hết vị cay, phơi hoặc sấy khô.

Dược liệu là các lát cắt dọc rộng ở phía trên, hẹp dần về phía dưới, dài 1,7 cm đến 5 cm, rộng 0,9 cm đến 3 cm, dày 0,2 cm đến 0,5 cm. Vỏ ngoài màu nâu đen, mặt cắt màu vàng sẫm, có dầu và bóng láng, trong mờ và có các bó mạch chiều dọc. Chất cứng và dễ gãy. Mặt gãy như sừng, mùi nhẹ, vị nhạt.

C. Bạch phụ tử: Rễ củ con loại nhỏ, rửa sạch cho vào vại, ngâm trong nước magnesi clorid (pha như trên) vài ngày. Sau đó đun tới chín đến giữa củ, lấy ra bóc vỏ bỏ. Thái lát mỏng theo chiều dọc, dày khoảng 3 mm, rửa hết vị cay tê, hấp chín, phơi khô, xông hơi diêm sinh, rồi phơi đến khô.

Dược liệu là các lát dày khoảng 3 mm, không có vỏ ngoài, màu trắng vàng, trong mờ.

Các dược liệu đã bào chế phải đáp ứng phép thử giới hạn aconitin như sau:

Giới hạn aconitin

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Nhôm oxyd kiềm.

Dung môi khai triển: *n* - Hexan - ethyl acetat (1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 20 g bột thô Hắc phụ tử, Bạch phụ tử hoặc Đạm phụ phiên cho vào một bình nón, thêm 150 ml ether (TT), lắc 10 phút, thêm 10 ml dung dịch amoniac [lấy 400 ml amoniac đậm đặc (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml], lắc 30 phút, để yên 1 giờ đến 2 giờ. Tách lấy lớp dịch chiết ether và làm bay hơi dung môi đến cạn. Hòa tan căn trong 2 ml ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan aconitin trong ethanol (TT) để được dung dịch có nồng độ 2 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 6 µl dung dịch thử và 5 µl dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để bay hết hơi dung môi ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch là hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch kali iodid (hòa tan 16,5 g kali iodid (TT) trong vừa đủ 100 ml nước) và thuốc thử Dragendorff (TT). Kích thước của vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn vết aconitin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu hoặc không có vết nào xuất hiện trên sắc ký đồ của dung dịch thử.

Bảo quản

Để nơi khô mát, trong bình kín, tránh ẩm.

Tính vị, qui kinh

Tân, cam, đại nhiệt, có độc. Vào các kinh tâm, thận, tỳ.

Công năng, chủ trị

Hồi dương cứu nghịch, bổ hỏa trợ dương, tán hàn, chỉ thống. Chủ trị: Chứng vong dương, thoát dương; chân tay lạnh, đau nhức xương khớp, lưng gối đau lạnh, chân tay phù nề.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 4 g đến 12 g dược liệu đã bào chế đạt tiêu chuẩn giới hạn aconitin, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai, âm hư nội nhiệt, trẻ em dưới 15 tuổi không được dùng. Không nên phối hợp với Bán hạ, Qua lâu, Bối mẫu, Bạch cập, Bạch liềm.

PHỤC LINH

Poria

Bạch linh

Thể quả nấm đã phơi hay sấy khô của nấm Phục linh [*Poria cocos* (Schw.) Wolf], họ Nấm lỗ (Polyporaceae), mọc ký sinh trên rễ một số loài Thông.

Mô tả

Thể quả nấm Phục linh khô: hình cầu, hình thoi, hình cầu dẹt hoặc hình khối không đều, lớn, nhỏ không đồng nhất, mặt ngoài màu nâu đến nâu đen, có nhiều vết nhăn rõ và lồi lõm. Thịt nặng, rắn chắc. Mặt bề sần sùi và có vết nứt, lớp viền ngoài màu nâu nhạt, phần trong màu trắng, số ít có màu hồng nhạt. Có loại bên trong còn mấy đoạn rễ thông (Phục thần). Nấm phục linh không mùi, vị nhạt, cắn dính răng.

Phục linh bì: Là lớp ngoài Phục linh tách ra, lớn, nhỏ, không đồng nhất. Mặt ngoài từ nâu đến nâu đen, mặt trong màu trắng hoặc nâu nhạt. Chất tương đối xốp, hơi có tính đàn hồi.

Phục linh khối: sau khi tách lớp ngoài, phần còn lại được thái, cắt thành phiến hay miếng, lớn nhỏ không đồng nhất, màu trắng, hồng nhạt hoặc nâu nhạt.

Xích phục linh: Là lớp thứ hai sau lớp ngoài, hơi hồng hoặc nâu nhạt.

Bạch phục linh: Là phần bên trong, màu trắng.

Phục thần: Là phần nấm Phục linh ôm đoạn rễ thông bên trong.

Bột

Màu trắng tro, có những khối sợi nấm dạng hạt không đều và những khối phân nhánh, không màu, nhỏ *dung dịch cloral hydrat*, sẽ tan dần. Soi kính hiển vi thấy: sợi nấm không màu hoặc màu nâu nhạt, mảnh dẻ, nhỏ, dài, hơi cong, phân nhánh, đường kính 3 µm đến 8 µm, ít khi có sợi nấm đường kính tới 16 µm.

Định tính

A. Lấy 1,0 g bột dược liệu, thêm 5 ml acetone (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 5 phút, thỉnh thoảng lắc, lọc. Bóc hơi dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa tan

cần trong 0,5 ml *anhydrid acetic* (TT), thêm 1 giọt *acid sulfuric* (TT), xuất hiện màu đỏ nhạt, sau chuyển thành màu xanh.

B. Nhỏ 1 giọt *dung dịch iod-iodid* (TT) lên bột được liệu sẽ có màu đỏ thẫm.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Tỷ lệ qua rây có kích thước mắt rây 3,150 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến

Thu hoạch từ tháng 7 đến tháng 9, loại bỏ đất cát, chất đóng cho ra mồ hôi rồi rải ra chỗ thoáng gió cho se bề mặt, tiếp tục chất đóng, ủ vài lần cho đến khi khô nước và bề mặt nhăn nheo, phơi âm can đến khô. Hoặc Phục linh tươi thái miếng và phơi âm can nơi thoáng gió. Tùy theo các phần thái và màu sắc của Phục linh mà có tên gọi khác nhau: Bạch phục linh, Phục linh bì, Xích phục linh, Phục linh khối, Phục linh편.

Bào chế

Ngâm Phục linh vào nước, rửa sạch, đồ thêm cho mềm, gọt vỏ, thái miếng hoặc thái lát lúc đang mềm và phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Nơi khô mát tránh ẩm, vụn nát.

Tính vị, qui kinh

Cam, đậm, bình. Quy vào kinh tâm, phế, thận, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Lợi thủy, thẩm thấp, kiện tỳ hòa trung, ninh tâm an thần. Chủ trị: Thủy thũng kèm tiểu sền, đánh trống ngực, mất ngủ, kém ăn, phân lỏng, tiết tả.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, phối ngũ trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Âm hư thấp nhiệt không nên dùng.

QUA LÂU (Hạt)

Semen Trichosanthis

Qua lâu tử

Hạt đã phơi hay sấy khô của cây Qua lâu (*Trichosanthes kirilowii* Maxim.) hoặc cây Song biên qua lâu (*Trichosanthes rosthornii* Harms), họ Bí (Cucurbitaceae).

Mô tả

Hạt qua lâu hình bầu dục dẹt, phẳng, dài 12 mm đến 15 mm, rộng 6 mm đến 10 mm, dày 3,5 mm. Mặt ngoài màu nâu nhạt đến nâu thẫm, trơn nhẵn. Xung quanh mép hạt có rãnh tròn. Đỉnh hạt tương đối nhọn, có rốn hình điểm, lõm xuống. Đáy hạt tròn tù. Vỏ hạt ngoài cứng, vỏ hạt trong là màng mỏng, màu lục xám, bóc lấy 2 lá mầm dày, màu trắng ngà, chứa nhiều dầu. Mùi nhẹ. Vị hơi ngọt dịu, hơi đắng.

Hạt Song biên qua lâu tương đối to hơn hạt Qua lâu và đẹp hơn, dài 15 mm đến 25 mm, rộng 8 mm đến 14 mm, dày 2,5 mm đến 3,5 mm. Mặt ngoài màu nâu. Mép hạt có rãnh rõ, tương đối sâu vào trong. Đỉnh hạt rộng và phẳng hơn.

Đinh tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat (5 : 1).

Dung dịch thử: Cho 1 g dược liệu vào bình nón, chiết siêu âm trong 10 phút với 10 ml ether dầu hoà (60 °C đến 90 °C) (TT), lọc. Lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột quả Qua lâu (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Châm 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, xuất hiện ít nhất 3 vết tắt quang tương đương với các vết ở sắc đồ của dung dịch đối chiếu. Các vết này chuyển sang màu nâu xám khi tiếp tục phun *dung dịch acid sulfuric* 10 % trong ethanol (TT).

Tạp chất

Tỷ lệ hạt thối lép: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 20,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt (Phụ lục 12.10).

Cân chính xác khoảng 4 g dược liệu. Tiến hành theo phương pháp ngâm lạnh. Dùng ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT) làm dung môi. Dịch thu được đem cô ở áp suất giảm đến gần có khối lượng không đổi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, hái quả chín, bỏ quả, lấy hạt, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Qua lâu tử: Loại bỏ tạp chất và hạt lép hỏng, rửa sạch, phơi khô, giã nát khi dùng.

Qua lâu tử sao: Lấy Qua lâu tử sạch, cho vào chảo, sao nhỏ lửa đến khi hạt phồng lên, lấy ra để nguội. Khi dùng giã vụn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, khô, hàn. Vào các kinh phế, vị, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Nhuận phế, hóa đàm và nhuận tràng. Chủ trị: Ho có đờm dính, táo bón, mụn nhọt, sữa ít.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Phản Ô đầu, Phụ tử, và Thiên hùng.

QUA LÂU (Quả)***Fructus Trichosanthis***

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Qua lâu (*Trichosanthes kirilowii* Maxim.), hoặc cây Song biên qua lâu (*Trichosanthes rosthornii* Harms), họ Bí (Cucurbitaceae).

Mô tả

Quả hình bầu dục rộng hoặc hình cầu, dài 7 cm đến 15 cm, đường kính 6 cm đến 10 cm. Mặt ngoài màu đỏ cam hoặc vàng cam, nhăn nheo hoặc nhăn bóng. Đỉnh quả còn sót lại gốc vòi nhụy. Đáy quả hơi nhô ra với cuống quả còn sót lại. Quả nặng nhẹ khác nhau không đồng nhất. Chất xốp, dễ vỡ. Mặt trong màu trắng vàng, có các xơ hình mắt lưới màu vàng đỏ. Ruột quả màu vàng cam, dính đặc sệt, có nhiều hạt kết dính lại thành đám. Có mùi như mùi đường cháy.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được dưới 11,0 % tính theo dược liệu khô kiệt. Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *methanol* (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, hái lấy quả chín, cắt cả cuống, hong khô nơi thoáng mát và phơi âm can hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế

Tách bỏ cuống và lau sạch đất, đất mỏng, thái lát hay cắt thành miếng.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, vị khô, hàn. Vào các kinh phế, vị, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, trừ đàm, nhuận táo, tán kết. Chủ trị: ho đờm do phế nhiệt, đau thất ngực, kết hung đầy bí ngực

và thượng vị, nhũ ung, phế ung, trường ung, đại tiện bí kết.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, phối ngũ trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Phản Ô đầu, Phụ tử và Thiên hùng. Không dùng cho người tỳ hư gây ỉa lỏng.

QUẾ (Cành)***Ramulus Cinnamomi*****Quế chi**

Cành phơi hay sấy khô của cây Quế (*Cinnamomum cassia* Presl.) hoặc một số loài Quế khác (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Cinnamomum loureirii* Nees.), họ Long não (Lauraceae).

Mô tả

Cành hình trụ tròn, thường chặt khúc dài 2 cm đến 4 cm, đường kính 0,3 cm đến 1 cm. Mặt ngoài màu nâu đến màu nâu đỏ, có nhiều vết nhăn dọc nhỏ và các vết sọc cành, sọc của chồi và nhiều lỗ vỏ. Chất cứng giòn, dễ gãy. Trên bề mặt vết cắt thấy: lớp vỏ màu nâu, bên trong có gỗ màu vàng nhạt tới nâu vàng, ruột gần tròn. Mùi thơm nhẹ, vị ngọt và hơi cay.

Vị phẫu

Mặt cắt hình tròn từ ngoài vào trong có: Biểu bì có một hàng tế bào, mang lông che chở đơn bào. Với cành già ngoài cùng là lớp bản. Mô mềm vỏ có từ 3 đến 5 lớp tế bào, một số tế bào có thành dày lên về một phía; các tế bào chứa tinh dầu và các tế bào mô cứng nằm rải rác trong mô mềm vỏ. Nhóm các tế bào mô cứng sắp xếp thành vòng không liên tục, đi kèm với các bó sợi. Với cành già hơn tế bào cứng tạo thành vòng liên tục. Libe tạo thành bó hay vòng. Tầng phát sinh libe-gỗ. Các mạch gỗ xếp thành hàng hướng tâm. Trong cùng là mô mềm ruột. Các tinh thể calci oxalat hình kim tập trung ở tia ruột và mô mềm ruột.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: *n*-Hexan - cloroform - ethyl acetat (4 : 1 : 1).

Dung dịch thử: lấy 2,0 g bột dược liệu qua cỡ rây số 250, thêm 10 ml ether (TT), lắc trong 3 phút, lọc.

Dung dịch đối chiếu: dung dịch aldehyd cinnamic 0,1 % trong ether (TT). Hoặc lấy 2,0 g bột cành Quế (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm đến

12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun lên bản mỏng *dung dịch 2,4-dinitrophenyl hydrazin (TT)*.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 5 vết màu da cam, trong đó có một vết có cùng màu và giá trị R_f với vết aldehyd cinnamic của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng cành Quế để chuẩn bị dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 4,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hái vào mùa xuân và mùa hè, bỏ lá lấy cành phơi hoặc sấy khô, hoặc nhân lúc tươi chặt đoạn dài 2 cm đến 4 cm, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát; trong bình kín.

Tính vị qui kinh

Tân, cam, ôn. Vào kinh phế, tâm, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Giải biểu hàn, thông dương khí, ôn thông kinh mạch, hóa khí. Chủ trị: Cảm mạo phong hàn, khí huyết ứ trệ, phù, đái không thông lợi.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Âm hư hỏa vượng và phụ nữ có thai không dùng.

QUẾ (Vỏ thân, vỏ cành)

Cortex Cinnamomi

Vỏ thân hoặc vỏ cành đã chế biến và phơi khô của cây Quế *Cinnamomum cassia* Presl. hoặc một số loài quế khác (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Cinnamomum loureirii* Nees.) họ Long não (Lauraceae).

Mô tả

C. cassia: Mảnh vỏ thường được cuộn tròn thành ống, dài 5 cm đến 50 cm, ngang 1,5 cm đến 10 cm, dày 1 mm đến 8 mm. Mặt ngoài màu nâu đến nâu xám, có các lỗ

vỏ và vết cuống lá (không nhìn thấy ở vỏ đã hóa bản dày). Mặt trong màu nâu đỏ đến nâu sẫm, nhẵn hoặc hơi gồ ghề. Chất cứng và giòn, dễ bẻ gãy; mặt bẻ không nhẵn, có xơ. Mặt cắt ngang có hai lớp: lớp ngoài màu vàng nâu, hơi thô ráp, lớp trong màu nâu đỏ, có xơ ngắn; Có một vòng màu nâu hơi vàng giữa hai lớp. Mùi thơm, vị cay ngọt, sau tê nhẹ.

Ở loài quế *C. zeylanicum*, vỏ thường mỏng hơn vỏ của loài *C. cassia*, lớp trong màu nâu vàng, mùi thơm nhẹ. Ở loài quế *C. loureirii*, lớp bản màu nâu ngoài cùng có thể bị cạo bỏ nên chỉ còn một lớp màu nâu hơi đỏ hay nâu sẫm, mùi rất thơm, thể chất giòn, dễ bẻ, vết bẻ có xơ.

Vi phẫu

Ngoài cùng là bản gồm nhiều lớp tế bào xếp thành hàng, khá dày, có nhiều chỗ bị bong ra hoặc nứt rách. Mô mềm vỏ gồm các tế bào hình nhiều cạnh hoặc có dạng chữ nhật nằm ngang, thành mỏng chứa hạt tinh bột rất nhỏ. Rải rác trong mô mềm có tế bào tiết tinh dầu, tế bào tiết chất nhầy, tinh thể calci oxalat hình kim nhỏ. Sát lớp bản có tế bào mô cứng xếp riêng lẻ hay các đám mô cứng xếp thành từng cụm, tế bào hình nhiều cạnh hoặc thuôn dài với thành dày đều đặn. Một số tế bào mô cứng có thành dày theo hình chữ U. Sát libe là vòng mô cứng gần như liên tục với tế bào có thành dày, khoang hẹp. Lớp libe cấp 2 phát triển nhiều, gồm tế bào thành mỏng xen lẫn với một số tế bào biên thành sợi có thiết diện vuông hoặc hơi tròn, thành dày, nằm rải rác. Libe cấp 2 bị tia tủy gồm từ 1 đến 5 dãy tế bào chia cắt thành từng cụm, nhiều tia tủy phát triển rộng ra đến mô mềm vỏ, chứa tinh thể calci oxalat hình kim. Rải rác trong libe còn có tế bào tiết tinh dầu, tế bào tiết chất nhầy, tế bào chứa tinh bột như trong mô mềm vỏ.

Bột

Bột màu vàng nâu hoặc nâu sẫm, mùi thơm, vị cay, hơi ngọt.

Nhiều sợi màu vàng nhạt, dài 200 μm đến 400 μm , đường kính 20 μm đến 50 μm , thành dày, khoang hẹp. Tế bào mô cứng gồm hai loại: một loại hình trái xoan hay chữ nhật, thành dày, khoang rộng hay hẹp, có ống trao đổi rõ; một loại tế bào có thành dày lên hình chữ U, khoang hẹp hơn, ống trao đổi rõ. Các tế bào mô cứng thường đứng riêng rẽ hoặc tụ thành từng đám, dài 60 μm đến 120 μm , rộng 30 μm đến 50 μm . Mảnh mô mềm, tế bào thành mỏng, trong chứa hạt tinh bột. Hạt tinh bột nhỏ, hình nhiều cạnh hoặc hơi tròn, đường kính 6 μm đến 15 μm , đứng riêng rẽ hoặc kép đôi, kép ba. Tinh thể calci oxalat hình kim thường bị gãy thành đoạn ngắn. Mảnh bản màu vàng nâu, gồm tế bào hình nhiều cạnh, thành khá dày.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: n-Hexan – cloroform – ethyl acetat (4 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 2,0 g bột dược liệu qua cỡ rây số 250, thêm 10 ml ether (TT), lắc trong 3 phút, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch aldehyd cinnamic chuẩn có nồng độ 0,1 % trong ether (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun lên bản mỏng dung dịch 2,4-dinitrophenyl hydrazin (TT).

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 5 vết màu da cam, trong đó có một vết có cùng màu và giá trị R_f với vết aldehyd cinnamic của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g bột thô dược liệu.

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).

Cho 20 g dược liệu khô đã xay nhỏ (cân chính xác) vào bình cầu dung tích 500 ml của bộ dụng cụ định lượng tinh dầu trong dược liệu. Thêm 200 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (TT). Cho 0,5 ml xylene (TT) vào ống hứng tinh dầu có khắc vạch, tiến hành cất trong 3 giờ với tốc độ 2,5 ml đến 3,5 ml/phút.

Dược liệu phải chứa ít nhất 1,0 % tinh dầu (tính theo dược liệu khô kiệt) .

Chế biến

Vào tháng 4 đến tháng 5 và tháng 9 đến tháng 10, chọn những cây quế sống 5 năm trở lên để bóc vỏ (cây sống càng lâu càng tốt). Trước khi bóc, lấy lát buộc quanh thân và cành to, cách khoảng 40 cm đến 50 cm buộc một vòng để cắt cho đều. Dùng dao nhọn cắt đứt phân nửa thân hoặc cành, rồi cắt dọc từng đoạn. Mỗi lần lấy vỏ, chỉ lấy một nửa bên, để lại nửa bên cho cây tái sinh. Sau đó lấy que nửa đã vót nhọn và mỏng lách vào khe, tách vỏ quế ra, để riêng từng loại. Chú ý khi bóc vỏ quế không được làm sót lại gỗ vì như vậy quế sẽ giảm giá trị.

Vỏ quế to dày phải ủ, ngâm nước một ngày, rửa sạch, để ráo nước. Lấy lá chuối tươi, hơ mềm lót quanh sọt dày độ 5 cm, xếp vỏ quế vào đầy sọt, đập bằng lá chuối (cũng dày 5 cm). Buộc chặt để 3 ngày (mùa nóng) hoặc 7 ngày (mùa lạnh), hàng ngày đảo trên xuống dưới, dưới lên trên cho nóng đều. Dỡ quế ở sọt ra, đem ngâm nước 1 giờ nữa. Vớt ra đặt lên phen

nửa, lấy một phen nửa khác đè lên, ép cho phẳng, để chỗ khô mát đến khi quế se. Lấy từng thanh quế, buộc ép vào ống nửa tròn thẳng (để cho dáng thẳng và đẹp), trong thời gian buộc ép như vậy, hàng ngày mở ra hai lần, lau chùi mặt trong cho bóng, rồi lại buộc vào. Cứ làm như vậy hàng ngày cho đến khi khô là được. Thời gian ủ quế đến khi hoàn tất phải mất 15 ngày đến 16 ngày (mùa nóng) hoặc 1 tháng (mùa mưa) và có khi hơn.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, gọt bỏ lớp bần, nếu làm thuốc hoàn tán thì giã nát, tán thành bột; với thuốc thang thì mài với nước thuốc để uống.

Bảo quản

Đề nơi khô, mát; trong bình kín.

Để tránh làm mất hương vị của quế, lấy sáp ong miết vào hai đầu của thanh quế, bọc giấy polyetylen, cho vào thùng kín để nơi khô mát.

Tính vị, qui kinh

Tân, cam, đại nhiệt. Vào các kinh thận, tỳ, tâm, can.

Công năng, chủ trị

Bổ hỏa trợ dương tán hàn, chỉ thống, hoạt huyết thông kinh. Chủ trị: Lưng gối đau lạnh, bụng đau lạnh, nôn mửa, tiêu chảy, bế kinh, đau bụng kinh, phù thũng, tiểu tiện rối loạn (đái không thông lợi, đái nhiều lần).

Cách dùng, liều dùng

Ngày dùng từ 1 g đến 4 g, dạng thuốc hãm, hoặc thuốc hoàn tán.

Kiêng kỵ

Âm hư hỏa vượng, phụ nữ có thai không dùng.

QUI GIÁP VÀ QUI BẢN

Carapax et Plastrum Testudinis

Mai rùa và yếm rùa

Mai và yếm đã phơi khô của con Rùa đen (Ô quy) (*Chinemys reevesii* Gray), họ Rùa (Emydidae).

Mô tả

Mai và yếm rùa liền nhau nhờ các cầu xương. Mai hơi dài hơn yếm.

Mai có hình bầu dục hẹp, khum khum, dài 7,5 cm đến 22 cm, rộng 6 cm đến 18 cm, phần phía trước hơi hẹp hơn phía sau, mặt ngoài màu nâu hoặc màu nâu đen, đầu phía trước có 1 khối sừng cổ, giữa sống lưng có 5 khối sừng đốt. Ở 2 bên mai có 4 khối sừng sườn, đối nhau, cạnh mỗi bên lại có 11 khối sừng rìa. Phần đuôi có 2 khối sừng móng (đòn giáp).

Yếm rùa có dạng phiến (tấm) gần như hình bầu dục, hình chùy viên, hình chữ nhật dài, rộng 5,5 cm đến 17 cm, dài 6,4 cm đến 21 cm, mặt ngoài yếm màu nâu

vàng nhạt đến nâu có 12 tấm khối sừng, mỗi tấm có vân dạng tia xạ, màu nâu tía. Mặt trong màu trắng vàng đến màu trắng tro, có vết máu hoặc thịt còn sót lại. Sau khi cạo, làm sạch, có thể thấy ở phía trong có 9 khối xương dẹt (9 bản), mép nổi các tấm có răng cưa khớp vào nhau. Phía đầu hình tròn tù hoặc bằng, phía đuôi có 1 khía hình tam giác, 2 cạnh đều, có dạng cánh, cong chéo lên ở 2 bên. Chất cứng, rắn, có mùi hơi tanh, vị hơi mặn.

Chế biến

Thu bắt quanh năm, nhưng thường vào mùa thu và mùa đông. Sau khi bắt được rửa, giết, bóc lấy mai và yếm, loại bỏ thịt còn sót lại, phơi khô (gọi là huyết bản). Hoặc sau khi bắt được rửa, luộc qua rồi bóc lấy mai và yếm, cạo sạch thịt còn sót lại, phơi khô (thang bản).

Huyết bản bóng láng, không bóc da, có khi còn vết máu.

Thang bản màu thẫm hơn, có vết da bị lột, mặt trong màu trắng tro, hoặc màu vàng nhạt, không bóng.

Bào chế

Quy giáp và quy bản: Lấy mai rửa và yếm rửa, đồ 45 phút, lấy ra để trong nước nóng, cạo sạch ngay thịt da còn sót lại, rửa sạch, phơi khô.

Quy giáp và quy bản chế dấm: Cho cát sạch vào nồi, sao to lửa cho khô, cho Quy giáp và Quy bản vào, sao đến khi mặt ngoài hơi vàng, lấy ra, loại bỏ cát, ngâm qua dấm, phơi khô. Khi dùng giã vụn (10 kg Quy giáp và Quy bản dùng 2 lít dấm).

Bảo quản

Để nơi khô, tránh ẩm.

Tính vị, quy kinh

Hàm, cam, vị hàn. Vào các kinh can, thận, tâm.

Công năng, chủ trị

Tư âm tiềm dương, ích thận cường cốt, dưỡng huyết bổ tâm. Chủ trị: Âm hư trào nhiệt, cốt chùng, đạo hãn (mồ hôi trộm), chóng mặt, hoa mắt, hư phong nội động, thất lưng chân teo yếu, trẻ chậm liền thóp, nữ băng lậu đới hạ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 24 g, sắc trước các vị thuốc khác. Thường dùng phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Người bệnh hư nhược mà không có hỏa, người hư hàn, ỉa lỏng không được dùng. Phụ nữ có thai dùng phải thận trọng.

RAU MÁ

Herba Centellae asiaticae

Tinh huyết thảo

Toàn cây tươi hoặc phơi khô của cây Rau má (*Centella asiatica* Urb.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Rau má là loại cỏ mọc bò, có rễ ở các mấu. Lá hình mắt chim, rộng 2 cm đến 4 cm, khía tai bèo, cuống lá dài 2 cm đến 4 cm ở những nhánh mang hoa và 8 cm đến 12 cm ở những nhánh thường. Cụm hoa là một tán đơn ngắn, hình tán đơn, mọc ở nách lá. Quả rủ mọc đôi, dẹt, tròn, rộng 3 mm đến 5 mm, có cạnh dọc nhô lên và vân lưới nhỏ rõ rệt, cuống quả rất ngắn.

Dược liệu khô thường cuộn lại thành khối. Rễ dài 2 cm đến 4 cm, đường kính 1 mm đến 1,5 mm; mặt ngoài màu nâu vàng nhạt hoặc màu vàng xám. Thân dài nhỏ, cong queo, màu vàng nâu, có vân nhăn dọc, trên mấu thường thấy rễ. Phiến lá có nhiều vết nhăn rách, đường kính 1 cm đến 4 cm, màu lục xám, mép có răng thô. Cuống lá dài 3 cm đến 6 cm, cong queo. Mùi nhẹ, vị nhạt.

Vi phẫu

Thân: Biểu bì gồm 2 đến 3 hàng tế bào hình chữ nhật. Mô dày ở những chỗ lồi của thân. Ống tiết ở sát biểu bì, đường kính 23 µm đến 24 µm gồm có 5 đến 7 tế bào tiết. Mô mềm ruột. Các bó libe-gỗ chòong kép, xếp theo vòng tròn liên tục, mỗi bó gồm: một đám mô cứng, libe và gỗ. Tầng sinh libe-gỗ gồm một lớp tế bào xếp đều đặn giữa libe và gỗ. Mô mềm ruột.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ethanol* 20 % (TT), để qua đêm. Lọc, thêm *dung dịch chì acetat* 10 % (TT) vào dịch lọc đến khi tủa hết. Lọc lấy dung dịch, sau đó loại chì thừa bằng 5 ml *dung dịch natri sulfat bão hòa* (TT). Lọc, lấy dịch lọc cho vào bình gạn, thêm cùng một thể tích hỗn hợp *ethanol* - *cloroform* (1 : 3). Lắc, để lắng, gạn lấy phần *ethanol* - *cloroform*. Làm khan nước trong 12 giờ với *natri sulfat khan* (TT), bốc hơi dung môi trên cách thủy cho đến khô. Cẩn hòa với 2 ml *ethanol* (TT) được dung dịch A dùng làm các phản ứng sau:

Lấy 0,5 ml dung dịch A cho vào ống nghiệm, cho một vài tinh thể α -*naphtol* (TT) rồi thêm 1 ml *acid sulfuric* (TT), xuất hiện màu đỏ carmin.

Lấy 0,5 ml dung dịch A, thêm 0,5 ml thuốc thử mới pha, gồm hỗn hợp 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT) và 9,5 ml *dung dịch acid picric bão hòa* (TT), xuất hiện màu đỏ da cam.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cloroform* - *methanol* - nước (7 : 3 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 1,0 g bột dược liệu (qua cỡ rây số 250), thêm 25 ml *ethanol* 96 % (TT), đun hồi lưu 30 phút, lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cẩn trọng 20 ml nước, chiết hai lần với *n-butanol bão hòa nước* (TT), mỗi lần 15 ml. Gộp các dịch chiết *n-butanol*, rửa bằng 15 ml nước bão hòa *n-butanol* (TT), bỏ lớp nước, lấy lớp *n-butanol* bốc hơi đến khô. Hòa tan cẩn trọng 1 ml *methanol* (TT) dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan asiaticosid chuẩn trong *methanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ 1 mg/1 ml. Nếu không có asiaticosid thì dùng 1 g Rau má (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 5 µl đến 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol* (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu và giá trị R_f với vết asiaticosid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 3,5 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 25,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 %* (TT) làm dung môi.

Chế biến

Hái toàn cây, rửa sạch, loại bỏ tạp chất, dùng dược liệu tươi hoặc phơi khô, khi dùng cắt đoạn.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Khô, tân, hàn. Vào các kinh can, tỳ, thận.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt trừ thấp, giải độc, tiêu sưng. Chủ trị: Hoàng đàn thấp nhiệt, tiêu chảy, thổ huyết, chảy máu cam, nhọt độc sưng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 30 g đến 40 g Rau má tươi, vò nát, lấy nước hoặc sắc uống. Dùng dược liệu khô, ngày dùng từ 15 g đến 30 g. Dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài: Dùng dược liệu tươi, giã nát, đắp chữa vết thương do ngã, gãy xương, bong gân và làm tan ung nhọt, lượng thích hợp.

RAU SAM

Herba Portulacae

Phần trên mặt đất được phơi hoặc sấy khô của cây Rau sam (*Portulaca oleracea* L.) họ Rau sam (Portulacaceae).

Mô tả

Đoạn thân lá có thể mang hoa và quả, dài ngắn không đều, có thể tới 30 cm, mềm dẻo, thường cuộn lại thành đám rối màu nâu hay nâu đen. Thân hình trụ đường kính 1 mm đến 2 mm có những rãnh dọc. Lá hình trứng ngược, đầu lá có thể hơi lõm vào dạng như hình tim, mọc đối, ở ngọn lá mang có thể mọc gần như tỏa tròn phía dưới hoa. Hoa không cuống, mọc thành cụm ở đầu cành. Quả nang mở bằng nắp với nhiều hạt nhỏ. Mùi đặc trưng; vị nhạt hơi chua.

Vì phần

Thân có tiết diện gần như tròn. Một hay hai lớp mô dày phiến. Mô mềm vỏ to với các tế bào gần tròn, có nhiều khoảng gian bào. Mô mềm có nhiều tinh thể calci oxalat. Bó libe-gỗ cấp 1 có dạng tam giác riêng lẻ hay hợp thành hình chữ V với gỗ ở phía trong, libe phía ngoài. Mô mềm tùy hợp.

Lá có hình cung mặt trên, lõm rõ mặt dưới nơi gân giữa. Bó libe-gỗ làm thành hình lưỡi liềm tạo bởi 3 bó libe-gỗ cách rời nhau bởi hai khe hẹp gồm những tế bào nhỏ. Dưới lớp libe là lớp mô dày cũng bị chia cắt tương tự bó libe-gỗ. Mô mềm vùng phiến lá có rất nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai và nhiều khuyết.

Bột

Bột màu nâu, mùi đặc trưng.

Mảnh biểu bì mang lỗ khí song bào, mảnh mô mềm mang đầy tinh thể calci oxalat hình cầu gai với kích thước thay đổi. Hạt tinh bột hình cầu có rốn hình sao. Mảnh mạch vạch, mạch mạng, đám tế bào mô cứng. Thỉnh thoảng gặp các mảnh biểu bì cánh hoa, các hạt phấn.

Định tính

A. Lấy 10 g bột dược liệu cho vào bình nón, chiết với 50 ml *ethanol 95 %* (TT) trên cách thủy trong 10 phút. Lọc lấy dịch lọc, cô trên cách thủy còn khoảng 1/4 thể tích. Lắc dịch chiết với 20 ml *ether dầu hòa* (30 °C đến 60 °C) (TT) (chia làm 3 lần 10, 5, 5 ml). Lấy dịch còn-nước còn lại, thêm 10 ml *nước*, chiết với *ethyl acetat* (TT) 3 lần, mỗi lần 10, 5, 5 ml. Gộp chung dịch ethyl acetat rồi bốc hơi dung môi trên bếp cách thủy cho tới cạn. Hòa tan cặn vào 5 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 %* (TT), lọc. Chia dịch lọc vào 3 ống nghiệm nhỏ, thêm riêng biệt vào mỗi ống 2 giọt đến 3 giọt các *thuốc thử Mayer* (TT), *Bouchardat* (TT) và *Bertrand* (TT), lắc nhẹ. Các dung dịch phải xuất hiện tủa.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G60F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac (9 : 1 : 1 giọt).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 3 g bột dược liệu, thêm 10 ml *n-hexan* (TT), siêu âm trong 10 phút, gạn bỏ lớp *n-hexan*, để dược liệu bay hơi trên cách thủy đến khô. Để nguội, thêm 20 ml *cloroform* (TT), lắc siêu âm 30 phút, lọc, lấy dịch lọc bốc hơi trên cách thủy còn 1 ml làm dung thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 3 g bột Rau sam (mẫu chuẩn) chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Trên một bản mỏng chấm riêng biệt 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric* (TT), sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 16,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *nước làm dung môi*.

Chế biến

Thuốc được thu hái vào mùa hè và mùa thu, loại bỏ tạp chất và rễ còn sót lại, rửa sạch, hấp qua hay trần qua nước sôi và phơi khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái đoạn, phơi khô.

Bảo quản

Nơi thoáng gió, tránh ẩm.

Tính vị, quy kinh

Toan, hàn. Vào các kinh tâm, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, chỉ ly. Chủ trị: xích bạch ly, đĩnh nhọt, eczema, thâm quầng, rần hay trùng thú cắn, tiểu tiện ra huyết, tụ huyết.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 9 g đến 10 g dược liệu khô hoặc từ 30 g đến 60 g dược liệu tươi. Dùng ngoài giã nát đắp tại chỗ với lượng thích hợp.

RÂU MÈO

Herba Orthosiphonis spiralis

Thân, cành mang lá, hoa đã phơi hoặc sấy khô của cây Râu mèo [*Orthosiphon spiralis* (Lour.) Merr.], họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Thân non vuông, nhẹ, xốp, dài 20 cm đến 50 cm, đường kính 1 mm đến 3 mm, mặt ngoài màu nâu tím sẫm, có rãnh dọc và có lông trắng nhỏ. Lá nguyên có cuống ngắn, phiến hình mũi mác dài 4 cm đến 6 cm, rộng 2 cm đến 3 cm, mép có răng cưa, đầu lá thuôn nhọn, hai mặt lá màu lục sẫm, phần gân chính có phủ lông mịn. Cụm hoa là xim co ở ngọn thân và ở đầu cành. Dược liệu có mùi hăng, vị hơi mặn và sau hơi đắng.

Vi phẫu

Lá: Biểu bì trên và dưới mang lông che chở và lông tiết. Lông che chở có nhiều ở phần gân giữa, gồm 2 đến 6 tế bào, mặt lông phủ cutin lờm chờm. Lông tiết có chân ngắn 1 đến 2 tế bào, đầu 2 đến 4 tế bào, chân ngắn một tế bào nằm sâu trong lớp biểu bì. Hai đám mô dày nằm sát biểu bì trên và dưới ở phần gân chính. Bó libe-gỗ xếp hình vòng cung tách đôi nằm giữa phần mô mềm của gân chính. Phần phiến lá có mô giậu gồm một hàng tế bào hình chữ nhật xếp thẳng đứng dưới lớp biểu bì trên. Mô khuyết gồm 4 đến 6 hàng tế bào hình tròn.

Bột

Mảnh biểu bì và lỗ khí kiểu trực bào, lông che chở và lông tiết có dạng như đã mô tả ở phần vi phẫu. Mạch mạch, mạch xoắn, mạch mạng.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Toluene - ethyl acetat - aceton - acid formic (5 : 2 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Ngâm và lắc kỹ 1 g bột dược liệu với 5 ml *cloroform* (TT) trong khoảng 10 phút. Lọc và dùng dịch trong làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Râu mèo (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, làm khô bản mỏng và phun hỗn hợp *dung dịch acid boric 10 % - dung dịch acid oxalic 10 %* (2 : 1), sau đó sấy ở 105 °C đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, vết màu vàng cho phát quang màu xanh lá mạ sáng.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hái vào tháng 3 đến tháng 4, lúc cây có nụ, trước khi nở hoa. Lấy lá, thân và ngọn có nụ hoa về phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Tính vị, qui kinh

Cam đậm, vị khổ, lương. Vào các kinh thận, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Thanh lợi thấp nhiệt, lợi tiểu. Chủ trị: Viêm thận, viêm bàng quang, sỏi thận, sỏi mật, viêm gan.

Cách dùng, liều dùng

Ngày dùng từ 5 g đến 6 g, dạng hãm hoặc sắc.

RỄ QUẠT (Thân rễ)

Rhizoma Belamcandae chinensis

Xạ can

Thân rễ để nguyên hay được cắt thành phiến mỏng đã phơi hay sấy khô của cây Rễ quạt [*Belamcanda chinensis* (L.) DC.], họ La đơn (Iridaceae).

Mô tả

Đoạn thân rễ màu vàng nâu nhạt đến nâu, dài 3 cm đến 10 cm, đường kính 1 cm đến 2 cm, có những vân ngang là vết tích của nơi dính lá, còn sót lại những rễ ngắn, nhiều nốt sần nhỏ là vết tích của rễ con, hay những phiến có dạng hình trái xoan hay tròn, dài 1 cm đến 5 cm, rộng 1 cm đến 2 cm, dày 0,3 cm đến 1 cm, mép lồi lõm không đều, màu vàng nâu nhạt đến vàng nâu. Mặt cắt ngang nhẵn, màu trắng ngà hay vàng nhạt, nhìn rõ hai phần: phần ngoài màu sẫm, phía trong nhạt hơn, có nhiều điểm nhỏ của các bó libe-gỗ. Phiến cắt dọc có vỏ ngoài màu nâu sẫm, mặt cắt có những sợi dọc. Mùi thơm nhẹ, vị đắng, hơi cay.

Vì phân

Lớp bản dày, gồm những tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn. Mô mềm vỏ cấu tạo bởi những tế bào thành mỏng, chứa nhiều hạt tinh bột và tinh thể calci oxalat

hình lăng trụ, rải rác có thể có các bó libe-gỗ là vết tích bó mạch của lá. Nội bì gồm một lớp tế bào nhỏ bao quanh phần trụ giữa. Các bó libe-gỗ đồng tâm (gỗ bao bọc libe) tập trung ở vùng sát nội bì, thưa hơn ở phần trung tâm. Mô mềm ruột gồm những tế bào thành mỏng có chứa hạt tinh bột và tinh thể calci oxalat hình lăng trụ.

Bột

Mảnh bản gồm những tế bào nhiều cạnh, thành dày, màu nâu. Mô mềm gồm những tế bào chứa hạt tinh bột. Hạt tinh bột nhỏ, hình tròn và hơi trái xoan, đường kính 2 µm đến 17 µm, thỉnh thoảng gặp những hạt tinh bột kép gồm 2 đến 5 hạt đơn. Tinh thể calci oxalat hình lăng trụ nguyên hay bị gãy.

Định tính

Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 40 ml *ethanol* (TT), đun hồi lưu cách thủy trong 30 phút. Lọc, cô dịch lọc còn khoảng 10 ml.

Nhỏ dịch chiết lên giấy lọc thành 2 vết riêng biệt, nhỏ tiếp lên một vết dịch chiết 1 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 %* (TT), để khô, soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết dịch chiết không có natri hydroxyd cho huỳnh quang vàng cam nhạt, vết dịch chiết có natri hydroxyd cho huỳnh quang vàng sáng.

Lấy 2 ml dịch chiết vào ống nghiệm, thêm một ít bột *magnesi* (TT) và 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch acid hydrocloric* (TT). Dung dịch có màu đỏ cam.

Lấy 2 ml dịch chiết vào ống nghiệm, thêm 2 ml *cloroform* (TT) và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 %* (TT), lắc mạnh. Đun trên cách thủy 2 phút, lắc đều, lớp nước kiềm có màu đỏ.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 8,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 18,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 90 %* (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào đầu mùa xuân, khi cây mới nảy mầm hoặc cuối thu, khi lá khô héo, đào lấy thân rễ, loại bỏ rễ con, rửa sạch, phơi khô.

Bào chế

Dược liệu khô đã loại bỏ tạp chất rửa sạch, ủ mềm, thái lát phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, trong bao bì kín, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn. Vào kinh phế, can.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, hóa đàm bình suyễn. Chủ trị: Họng sưng đau, ho đờm, suyễn tức.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc hoặc bột; làm viên ngâm, uống. Thường dùng phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai không nên dùng.

RIỀNG (Thân rễ)

Rhizoma Alpiniae officinari

Thân rễ đã phơi khô của cây Riềng (*Alpinia officinarum* Hance), họ Gừng (*Zingiberaceae*).

Mô tả

Thân rễ hình trụ, thường cong và phân nhánh nhiều, dài 5 cm đến 9 cm hoặc hơn, đường kính 2 cm đến 4 cm. Mặt ngoài màu nâu đỏ đến nâu sẫm, có nhiều nếp nhăn dọc và những mấu vòng màu xám; mỗi mấu dài 0,2 cm đến 1 cm, mang vết tích của rễ con. Thê chất dai, chắc, khó bẻ gãy. Mặt gãy màu vàng xám hay nâu đỏ. Vùng trụ chiếm 1/3 mặt cắt của thân rễ. Mùi thơm, vị hăng, cay.

Vi phẫu

Biểu bì gồm một lớp tế bào hình chữ nhật, nhỏ xếp tương đối đều đặn, một số tế bào còn chứa khối nhựa màu nâu đỏ. Mô mềm vỏ khuyết. Nội bì thấy rõ, sát lớp nội bì là lớp trụ bì. Các bó libe gỗ rải rác trong phần mô mềm vỏ và mô mềm ruột, tập trung nhiều nhất ở sát lớp nội bì. Mỗi bó hình tròn hay hình trứng có mạch gỗ và libe ở giữa, bao quanh là các sợi, rải rác có các mạch gỗ bị cắt dọc. Nhiều tế bào tiết tinh dầu rải rác khắp mô mềm ruột và mô mềm vỏ.

Bột

Mảnh biểu bì gồm các tế bào hình đa giác, màu vàng nâu. Mạch mô mềm gồm những tế bào hình nhiều cạnh rải rác có chứa tế bào tiết tinh dầu màu vàng nhạt. Tinh bột hình que ngắn, tròn ở hai đầu. Sợi có thành mỏng. Khối nhựa màu nâu đỏ. Mạch vạch, mạch vòng, mạch điểm.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào bình nón nút mài, thêm 20 ml *ethanol* 96 % (TT), đun sôi, lắc đều, lọc. Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 1 % (TT), xuất hiện màu xanh đen.

Lấy 5 ml dịch lọc cho vào chén sứ, cô đến cạn. Hòa lẫn với 5 ml thuốc thử xanthydrol {Lấy 10 mg *xanthydrol* hòa tan trong 99 ml *acid acetic* đậm đặc (TT), thêm 1 ml *acid hydrocloric* (TT), dùng trong vòng 1 ngày đến 2 ngày}, chuyển vào ống nghiệm. Đậy ống nghiệm bằng nút bông rồi nhúng vào nước nóng trong 3 phút đến 5 phút, dung dịch xuất hiện màu đỏ mận.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - ethyl acetat (8 : 2).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 5 ml chloroform (TT), lắc trong 5 phút, lọc, cô dịch lọc còn khoảng 0,5 ml, lấy dịch này làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Riềng (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun thuốc thử vanilin - sulfuric (TT). Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi xuất hiện vết. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết (ít nhất 5 vết) cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 5,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 90 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào cuối mùa hạ, đầu mùa thu, loại bỏ các rễ sợi và các bẹ vảy lá còn sót lại. Rửa sạch, cắt đoạn và phơi khô.

Bào chế

Lấy dược liệu khô, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát mỏng và phơi khô.

Bảo quản

Nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh

Tân, nhiệt. Quy vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Ôn trung tán hàn, tiêu thực và chỉ thống. Chủ trị: Thượng vị đau lạnh, nôn mửa, vị hàn ợ chua.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Nôn mửa do vị hỏa và hoắc loạn do tràng nhiệt không nên dùng.

TRONG MƠ

Sargassum

Toàn bộ sợi tảo được rửa qua nước ngọt, phơi khô của một số loài Trong mơ (*Sargassum henslowianum* J. Agarah), họ Rong đuôi ngựa (Sargassaceae).

Mô tả

Loại tảo có phao hình cầu hay hình bầu dục: Tảo cấu tạo bởi những sợi phân nhánh màu đỏ nâu đến nâu đen; đường kính khoảng 0,1 cm, khô, giòn, dễ gãy. Những sợi này mang những bộ phận mỏng, dẹt như lá. Kích thước thay đổi, loại nhỏ nhất dài 0,8 cm đến 1 cm, rộng khoảng 0,2 cm, loại to nhất dài 10 cm đến 12 cm, rộng khoảng 1 cm, có 1 gân giữa, soi lên ánh sáng có màu nâu đỏ và có những chấm đen. Mép có răng cưa. Rải rác từng quãng có những phao để rong mọc đứng trong nước. Phao hình cầu hay hình bầu dục, kích thước phao thay đổi tùy theo từng loại rong; loại nhỏ nhất dài khoảng 0,2 cm, đường kính khoảng 0,1 cm; loại to nhất dài khoảng 1 cm, đường kính khoảng 0,6 cm, màu đỏ nâu đến nâu đen, trong chứa đầy khí. Gốc tảo rộng.

Loại tảo có phao hình hạt gạo: Hình dạng chung như trên, nhưng phần dẹt như lá dài khoảng 2 cm, rộng khoảng 0,3 cm. Phao hình hạt gạo dài khoảng 0,8 cm, đường kính khoảng 0,1 cm, đầu nhọn, mặt ngoài cũng có chấm đen.

Mùi tanh, vị hơi mặn.

Vị phần

Bộ phận dẹt như lá: Ngoài cùng có một lớp tế bào nhỏ xếp đều đặn màu nâu tím, bao xung quanh từng quãng có bộ phận sinh sản ăn sâu vào trong gọi là bào phòng. Trong bào phòng có lông. Lớp ruột gồm tế bào hình nhiều cạnh, to, không đều xếp sát nhau. Trong tế bào ruột còn có một hoặc nhiều hạt hình bầu dục chứa chất dự trữ. Ở giữa ruột có một đám tế bào nhỏ hơn.

Bộ phận hình sợi: Về cấu tạo bên trong giống như bộ phận dẹt nói trên, chỉ khác hình dạng bên ngoài, không có bộ phận sinh sản. Ở gốc tảo lớp ngoài gồm những tế bào hình sợi xoắn chặt với nhau thành từng lớp ngang dọc tương đối đều.

Bộ phận như quả (phao): Phía ngoài gồm một lớp tế bào nhỏ, xếp sát nhau bắt màu nâu sẫm. Ở giữa gồm các tế bào to tròn, màng mỏng, xếp sát nhau (không có khoảng gian bào). Trong cùng gồm một lớp tế bào dẹt.

Định tính

A. Lấy 1 g dược liệu cắt vụn, thêm vào 20 ml nước, ngâm lạnh 2 giờ, lọc, cô dịch lọc trên cách thủy đến khi còn khoảng 3 ml đến 5 ml, thêm vài giọt dung

dịch sắt (III) clorid 5 % (TT), sẽ xuất hiện tủa màu nâu lắng xuống.

B. Cho 5 g bột dược liệu vào 1 chén sứ đường kính 5 cm đến 6 cm, thêm 0,5 g *natri hydroxyd* (TT) và 1 g *kali carbonat* (TT). Đốt hỗn hợp trên cho đến khi có màu đen. Sau đó cho vào lò nung và nung ở 350 °C trong 1 giờ. Để nguội, thêm 5 ml nước và thêm từ từ *acid sulfuric* (TT) cho đến khi hỗn hợp có pH acid. Chuyển tất cả vào 1 bình gạn, thêm 3 ml *cloroform* (TT) và từng giọt dung dịch *cloramin T* (TT) 0,5 % trong nước (TT), lắc cho đến khi lớp cloroform có màu tím đỏ.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 18,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ và mùa thu, vớt Trong mơ, rửa bằng nước ngọt 2 lần đến 3 lần để loại muối và tạp chất. Phơi hoặc sấy khô ở 40 °C đến 50 °C.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi qua, cắt đoạn, phơi khô.

Bảo quản

Nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn, hàn. Quy vào các kinh vị, can, thận.

Công năng, chủ trị

Tiêu đàm nhuận kiết, lợi thủy tiêu phù. Chủ trị: Bướu cổ và tràng nhạc, sản khí, phù thũng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, thuốc bột, thuốc viên, có thể dùng dược liệu tươi.

Kiêng kỵ

Không nên phối hợp với Cam thảo, Nguyên hoa, Đại kích. Tỷ vị hư hàn thấp trệ không nên dùng.

SA NHÂN (Quả)

Fructus Amomi

Quả gần chín đã bóc vỏ và phơi khô của cây Sa nhân (*Amomum vilosum* Lour. và *Amomum longiligulare* T. L. Wu), họ Gừng (Zingiberaceae).

Mô tả

Amomum vilosum Lour.: Hình bầu dục hay hình trứng, dài 1,5 cm đến 2 cm, đường kính 1 cm đến 1,5 cm, màu nâu nhạt hay nâu sẫm, có 3 gờ tù (vách ngăn); mỗi

ngăn có chứa 7 đến 26 hạt. Bên ngoài mỗi hạt có một màng mỏng, màu trắng mờ (áo hạt) chụm thành một khối. Hạt màu nâu sẫm, cứng nhẵn nhéo, đường kính 2 cm đến 3 cm, dính theo lối dính noãn trụ giữa. Cắt ngang thấy vỏ hạt màu nâu sẫm, hình khối nhiều mặt, ngoại nhũ màu trắng, nội nhũ màu trắng ngà. Mùi thơm, vị hơi cay.

Amomum longiligulare T. L. Wu: Hình bầu dục hay hình trứng dài, có 3 gờ tù, dài 1,5 cm đến 2 cm, đường kính 0,8 cm đến 1,2 cm. Bên ngoài mỗi quả có gờ phân nhánh mịn như tuyết, có sọc của cuống hoa để lại. Hạt màu nâu sẫm, cứng. Khối lượng các hạt tương đối nhỏ, mỗi quả có 3 đến 24 hạt, đường kính 1,5 mm đến 2 mm. Mùi thơm và vị hơi nhạt.

Định tính

A. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại, bột dược liệu phát quang màu tím nâu.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel* G.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat (22 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan tinh dầu thu được trong mục định lượng trong *ethanol* 96 % (TT) để được dung dịch có chứa 20 µl/ml.

Dung dịch đối chiếu: Lấy Sa nhân (mẫu chuẩn) cắt lấy tinh dầu và chuẩn bị như dung dịch thử hoặc hòa tan bornyl acetat trong *ethanol* 96 % (TT) để được dung dịch có chứa 10 µl/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin* 5 % trong *acid sulfuric*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu hoặc phải có vết có cùng màu đỏ tía và giá trị R_f với vết bornyl acetat trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ hạt rời: Không quá 10,0 %.

Tạp chất hữu cơ: Không quá 1,0 %.

Tỷ lệ hạt non: Không quá 2,0 %.

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7), dùng 20 g bột dược liệu và 150 ml nước, cắt trong 4 giờ. Dược liệu phải chứa ít nhất 3,0 % tinh dầu đối với loài *A. vilosum* và ít nhất 1,5 % tinh dầu đối với loài *A. longiligulare* tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ, mùa thu, lúc trời khô ráo, hái lấy quả chín, để cả vỏ, tải phơi ngay cho thật khô; nếu không gấp nắng phải sấy kịp thời; tốt nhất ngày phơi, đêm sấy, khoảng 4 ngày đến 5 ngày thì khô. Quả Sa nhân khô kiệt đem bóc bỏ vỏ, lấy hạt đem phơi hoặc sấy nhẹ (40 °C đến 45 °C) đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô mát, thoáng gió tránh nóng ẩm.

Tính vị, qui kinh

Tân, ôn. Vào các kinh tỳ, vị thận.

Công năng, chủ trị

Hành khí hóa thấp, an thai. Chủ trị: Đau bụng, nôn mửa, tiêu chảy, đau nhức xương khớp, cơ nhực, động thai.

Cách dùng, liều dùng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc, hoặc hoàn tán.

Kiêng kỵ

Âm hư nội nhiệt không nên dùng.

SA SÂM (RỄ)

Radix Glehniae

Sa sâm bắc

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Sa sâm (*Glehnia littoralis* Fr. Schmidt ex Miq.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Rễ hình trụ, đôi khi phân nhánh, dài 15 cm đến 45 cm, đường kính 0,4 cm đến 1,2 cm. Đầu trên hơi nhỏ, phần giữa phình to, phần dưới nhỏ dần. Mặt ngoài màu trắng vàng nhạt, hơi thô, đôi khi còn sót lại lớp ngoài. Nếu không bỏ lớp ngoài, bên ngoài có màu nâu vàng, có vân hay nếp nhăn dọc nhỏ hoặc rãnh dọc, còn vết rễ con lõm đốm màu vàng nâu. Đầu rễ nhọn dần, cổ rễ thường mang gốc thân màu vàng nâu, chất giòn, dễ bẻ gãy. Mặt bẻ: phần ngoài màu trắng hoặc vàng nhạt, phần gỗ ở trong màu vàng. Mùi đặc biệt. Vị hơi ngọt.

Vi phẫu

Mô mềm gồm vài hàng tế bào, có ống tiết rải rác (nếu không bỏ lớp ngoài sẽ thấy tầng bản), phần libe rộng, tia ruột rõ ràng, nhóm ống rây đổ ra phía ngoài xếp như hình dải hẹp; ống tiết rải rác, đường kính 20 µm đến 65 µm, bên trong chứa chất tiết màu vàng nâu, có 5 đến 8 tế bào tiết bao quanh. Tầng phát sinh libe-gỗ có hình vòng tròn. Những tia gỗ gồm 2 đến 5 hàng tế bào, mạch gỗ phần lớn sắp xếp theo hình chữ V, tế bào mô mềm chứa hạt tinh bột đã hồ hóa.

Bột

Màu trắng ngà. Mảnh mô mềm, mảnh bần. Mảnh mạch vạch. Mạch điểm mảnh mô mềm gỗ tế bào hẹp, dài, có khi dính cả mạch gỗ.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Mẫu gốc thân còn sót lại và tạp chất khác: Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hè hoặc mùa thu, đào lấy rễ, cắt bỏ thân cây và rễ con, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô hoặc phơi đến se, nhúng vào nước sôi, bỏ lớp ngoài, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất và phần thân còn sót lại, ủ hơi mềm, cắt thành đoạn, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh sâu mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, vị khổ, vị hàn. Vào các kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị

Nhuận phế, thanh táo nhiệt, ích vị sinh tân. Chủ trị: Phế có táo nhiệt: ho khan, ho kéo dài, đờm đặc ít, sốt, họng khô, khát do âm hư tân dịch giảm sút. Miệng, môi khô, lở loét, chảy máu chân răng do vị nhiệt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4,5 g đến 9 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Không dùng kết hợp với Lê lô. Không dùng cho người ho do phế hàn.

SÀI ĐẤT***Herba Wedeliae***

Phần trên mặt đất còn tươi hoặc phơi hay sấy khô của cây Sài đất [*Wedelia chinensis* (Osbeck) Merr.], họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Những đoạn thân ngắn không đều, mang lông cứng. Lá mọc đối gần như không cuống. Phiến lá hình bầu dục thon, hai đầu hơi nhọn, dài 1,5 cm đến 5 cm, rộng 0,8 cm đến 2 cm. Hai mặt có lông nhám, mặt trên màu

lục xám, có đốm trắng, mặt dưới màu nhạt hơn. Gân chính và cặp gân phụ đầu tiên nổi rõ. Mép lá có 3 đến 5 đôi răng cưa rất thưa và nông. Cụm hoa hình đầu, màu vàng, mọc ở ngọn cành, cuống cụm hoa dài 5 cm đến 10 cm. Hoa ở vòng ngoài đơn tính (hoa cái), có cánh hoa hình lưỡi nhỏ, hoa ở giữa lưỡng tính, hình ống. Dược liệu có mùi hơi thơm. Vị hơi mặn.

Vi phẫu

Lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới có lông che chở gồm 3 đến 6 tế bào chứa nang thạch, gốc hơi phình to, đầu nhọn. Mặt ngoài lông che chở xù xì, trừ tế bào đầu lông nhọn và nhẵn. Rất hiếm loại lông nhẵn. Biểu bì ở lá non có thể mang lông tiết chân đơn bào, đầu đa bào.

Phần gân giữa: Tương ứng với hai phần lõi của gân chính có hai đám mô dày ở ngay sát lớp biểu bì. Ở giữa có một bó libe-gỗ chính, có thể kèm theo một hoặc 2 bó libe-gỗ phụ, có cấu tạo giống libe-gỗ chính nhưng nhỏ hơn. Bó libe-gỗ có kèm 2 đám mô dày ở phía trên và dưới, libe xếp sát mô dày bên dưới, gỗ gồm một số mạch gỗ xếp sát đám mô dày phía trên.

Phần phiến lá: Mô giậu nằm sát biểu bì trên, có một hoặc hai lớp tế bào hình chữ nhật, xếp dọc, sát nhau. Dưới mô giậu là mô khuyết.

Bột

Có nhiều lông che chở, nguyên vẹn hoặc gãy thành từng đoạn. Mỗi lông có 3 đến 6 tế bào chứa nang thạch, đầu nhọn, gốc hơi phình to, chứa chất màu vàng nhạt. Mặt ngoài lông xù xì. Riêng tế bào ở đầu lông nhẵn. Lông tiết chân đơn bào, đầu đa bào (rất ít). Mảnh biểu bì gồm những tế bào thành hơi nhẵn, thường có kèm lỗ khí và lông che chở. Lỗ khí có 3 đến 4 hoặc 5 đến 6 tế bào kèm (kiểu hỗn bào). Nơi chân lông che chở dính với biểu bì có khoảng 11 đến 15 tế bào biểu bì xếp tỏa như hình hoa thị. Mảnh mạch mạng, mạch chấm, mạch xoắn. Sợi thành dày, khoang rộng. Tế bào mô dày hình nhiều cạnh, có ống trao đổi. Mảnh cánh hoa gồm tế bào thành mỏng hơi nhẵn. Hạt phấn hoa hình cầu, màu vàng, mặt ngoài xù xì, có thể nhìn thấy rõ 3 lỗ nảy mầm ở một số hạt phấn.

Định tính

Cho khoảng 5 g đến 6 g dược liệu đã cắt nhỏ vào bình nón 250 ml, thêm khoảng 50 ml *ethanol* 90 % (TT). Lắc đều. Đun hồi lưu trong 30 phút. Lấy dịch lọc cô cách thủy còn khoảng 5 ml đến 6 ml để làm các phản ứng sau:

A. Lấy 1 ml đến 2 ml dịch lọc, thêm 5 giọt *dung dịch acid hydrocloric* (TT) và một ít bột *magnesi* (TT) hoặc bột *kẽm* (TT): dung dịch từ màu xanh chuyển sang đỏ cam, để lâu màu nhạt dần.

B. Lấy 1 ml đến 2 ml dịch lọc, thêm 5 giọt *dung dịch natri carbonat* 10 % (TT), 3 ml đến 4 ml nước, đun sôi, để nguội, thêm 3 giọt *thuốc thử diazo* (TT) sẽ xuất hiện màu đỏ thẫm.

C. Nhỏ lên giấy lọc 1 giọt đến 2 giọt dịch lọc đã cô. Thêm 1 giọt *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (TT)*. Để khô. Quan sát dưới ánh đèn tử ngoại ở bước sóng 365 nm, sẽ thấy huỳnh quang màu vàng nhạt (so sánh với vết dịch lọc trên giấy không nhỏ *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol*).

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 20,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước lỗ mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ lá biến màu (cháy đen): Không quá 1,0 %.

Tỷ lệ gốc rễ còn sót lại: Không quá 1,0 %.

Chế biến

Thu hái quanh năm. Cắt những đoạn thân trên mặt đất, loại bỏ rác bẩn, rửa sạch, dùng tươi hoặc phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Vi hàn, vi khô, lương. Vào ba kinh: Tâm, phế, vị.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, tiêu viêm. Chủ trị: Mụn nhọt, ngứa lở, dị ứng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 20 g đến 40 g, dạng thuốc sắc hoặc cao lỏng.

SÀI HỒ (RỄ)***Radix Bupleuri***

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Bắc Sài hồ (*Bupleurum chinensis* DC.) hoặc cây Hoa nam Sài hồ (*Bupleurum scorzonifolium* Willd.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Bắc Sài hồ: Rễ hình trụ hoặc hình nón thon dài, dài 6 cm đến 15 cm, đường kính 0,3 cm đến 0,8 cm, đầu rễ phình to, ở đầu rễ còn dính gốc thân, dạng sợi ngắn. Phần dưới phân nhánh. Mặt ngoài màu nâu đen hoặc nâu nhạt, có vết nhăn dọc, vết sẹo của rễ con và lỗ vỏ. Chất cứng và dai, khó bẻ gãy, mặt gãy có những lớp sợi, vỏ màu nâu nhạt, phần gỗ màu trắng vàng. Mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.

Hoa nam Sài hồ: Rễ tương đối nhỏ, hình nón, đầu rễ có gốc thân còn sót lại. Đầu rễ to hơn, đường kính có

thể tới 1,5 cm, đoạn cuối rễ dài, thon hơn. Phần dưới thường ít hoặc không phân nhánh. Mặt ngoài màu nâu đỏ hoặc nâu đen, đôi khi có nếp nhăn sâu. Nơi sát đầu rễ thường có vân lưới tròn, ngang, nhô lên, nằm sát nhau. Chất hơi mềm, dễ bẻ gãy. Mặt gãy không có sợi, hơi phẳng. Mùi ôi khét.

Vi phẫu

Lớp bần gồm nhiều lớp tế bào xếp đồng tâm và xuyên tâm, có nhiều chỗ rách. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình nhiều cạnh dẹp, rải rác bên trong là những ống tiết (đôi khi còn sót lại chất tiết màu vàng nâu). Libe hợp thành từng tia do bị ngăn cách bởi các tia gỗ to. Gỗ cấu tạo bởi nhiều vòng tròn đồng tâm gồm gỗ cấp 2 phát triển và gỗ cấp 1 còn tồn tại. Vòng gỗ trong cùng bao quanh phần tủy. Phần tủy là mô mềm cấu tạo bởi những tế bào hình nhiều cạnh, rải rác bên trong là các ống tiết xếp khá đều đặn trên một vòng tròn.

Bột

Bột có màu vàng nâu, mùi thơm đặc trưng, vị nhạt hơi đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bần gồm những tế bào hình nhiều cạnh, có thành dày. Mảnh mô mềm có chứa chất tiết. Tế bào mô cứng có thành dày, có lỗ trao đổi rõ. Nhiều hạt tinh bột thường xếp thành đám. Khối chất màu đỏ.

Định tính

A. Lắc mạnh 0,5 g bột dược liệu với 10 ml *nước*, cho bột bền.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - ethanol - nước* (8 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu thô, thêm 20 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu ở 80 °C trong khoảng 1 giờ, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc còn khoảng 5 ml, được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 0,5 g bột Sài hồ (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Sau đó phun *dung dịch p-dimethylamino benzaldehyd (TT) 5 % trong acid sulfuric 40 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 60 °C cho tới khi xuất hiện vết. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tự nhiên. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Thân, lá còn sót lại: Không quá 10,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 11,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân hay mùa thu đào lấy rễ, cắt bỏ thân, lá trên mặt đất, rửa sạch đất cát, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Sài hồ phiến: Loại bỏ tạp chất và phần sót lại của thân, lá, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi hoặc sấy khô.

Thổ Sài hồ (Sài hồ sao dấm): Lấy Sài hồ thái lát, cho dấm vào trộn đều, ủ cho đến khi dấm thấm hết vào lõi, cho vào chảo, sao nhỏ lửa, đảo đều đến khô. Dùng 12 lít dấm cho 100 kg Sài hồ.

Bảo quản

Nơi thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, tân, vị, hàn. Quy vào các kinh: Can, đờm, tâm bào, tam tiêu.

Công năng, chủ trị

Hòa giải biểu lý, sơ can, thăng dương. Chủ trị: Hàn nhiệt vắng lai, ngực sườn đau trướng, miệng đắng, không muốn ăn, buồn nôn (như sốt rét); đau đầu, chóng mặt, dễ cáu gắt, rối loạn kinh nguyệt, sa dạ con, sa trực tràng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người can dương thượng thăng, âm hư hỏa vượng.

Chú ý

Thân rễ cây Sài hồ lá dài (*Bupleurum longiradiatum* Turcz) bề ngoài phủ nhiều mẫu tròn rất độc, không thể dùng làm vị thuốc Sài hồ được.

SÁP ONG TRẮNG**Cera alba**

Sáp ong trắng là sáp ong vàng đã được tẩy màu.

Mô tả

Những khối sáp có hình dáng không nhất định, kích thước không đều nhau, thể rắn, màu trắng đục, cứng

và giòn hơn Sáp ong vàng, không còn mùi mật ong, không vị, không tan trong nước, tan trong ethanol 96 % và ether nóng.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Khoảng 0,96 (Phụ lục 6.5).

Độ chảy

62 °C đến 69 °C (Phụ lục 6.7).

Mỡ, acid béo, nhựa và xà phòng

Yêu cầu và phương pháp thử: Xem chuyên luận “Sáp ong vàng”.

Chỉ số acid

Từ 17 đến 24 (Phụ lục 7.2).

Phương pháp thử: Xem chuyên luận “Sáp ong vàng”.

Chỉ số xà phòng

80 đến 100 (Phụ lục 7.7).

Phương pháp thử: Xem chuyên luận “Sáp ong vàng”.

Bảo quản

Để nơi thoáng mát, tránh nhiệt độ cao.

SÁP ONG VÀNG**Cera flava**

Chất sáp lấy từ tổ các loài Ong mật (*Apis cerana* Fabr. hoặc *Apis mellifera* L.) hoặc các loài Ong mật khác thuộc chi *Apis*, họ Ong (Apidae).

Mô tả

Những mảnh hoặc cục nhỏ không đều nhau, hình dáng không nhất định, màu vàng hoặc nâu nhạt. Dùng tay bóp mềm ra và vụn được. Thề chất giòn hơn khi để ở nhiệt độ lạnh. Thoảng mùi mật ong, không vị. Không tan trong nước, tan được một phần trong ethanol 96 % nóng, tan trong ether nóng, cloroform, dầu béo và tinh dầu.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: 0,960 đến 0,966 (Phụ lục 6.5).

Độ chảy

62 °C đến 66 °C (Phụ lục 6.7).

Mỡ, acid béo, nhựa, và xà phòng

Lấy 2 g chế phẩm vào một cốc có mỏ dung tích 250 ml, thêm 70 ml *dung dịch natri hydroxyd* 3,5 N (TT), đun sôi cẩn thận trong 30 phút. Duy trì thể tích bằng cách thêm nước cho đủ. Để hỗn hợp nguội ở nhiệt độ phòng trong khoảng 2 giờ. Chất lỏng phải trong hoặc chỉ hơi mờ. Lọc qua bông thủy tinh, acid hóa dịch lọc bằng *acid hydrocloric* (TT), dịch lọc không được đục, không tủa.

Chỉ số acid

17 đến 24 (Phụ lục 7.2).

Cân chính xác khoảng 3 g chế phẩm, cho vào bình nón có dung tích 250 ml, thêm 50 ml *ethanol* (TT) đã trung hòa trước với *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N* (TT). Đun nóng đến khi chảy tan hỗn hợp, lắc đều. Thêm 0,5 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT) và chuẩn độ khi còn nóng bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N trong ethanol* (CĐ) đến khi dung dịch có màu hồng nhạt, bền vững trong 30 giây, ghi số n ml *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N* (CĐ) đã dùng.

Chỉ số acid của chế phẩm được tính theo công thức:

$$\text{Chỉ số acid} = \frac{n \times 5,61}{\text{Lượng chế phẩm (g)}}$$

Chỉ số xà phòng

80 đến 100 (Phụ lục 7.7).

Mẫu thử: Cân chính xác khoảng 3 g chế phẩm, cho vào một bình nón nút mài có dung tích 250 ml, thêm chính xác 25 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol* (CĐ) và 50 ml *ethanol 96 %* (TT). Lắp sinh hàn hồi lưu. Đun hỗn hợp 4 giờ trong cách thủy sôi (hỗn hợp không còn bị đục khi pha loãng với nước), lấy ra để nguội, pha loãng dung dịch trong bình với 25 ml nước đun sôi để nguội. Thêm vào bình 5 giọt *phenolphthalein* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N* (CĐ) cho đến khi dung dịch mất màu.

Mẫu trắng: Thực hiện trong điều kiện giống mẫu thử nhưng không có chế phẩm.

Tính kết quả theo công thức:

$$\text{Chỉ số xà phòng hóa} = \frac{(b - a) \times 28,05}{\text{Lượng chế phẩm đem thử (g)}}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N* (CĐ) dùng cho mẫu thử;

b là số ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N* (CĐ) dùng cho mẫu trắng.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh nhiệt độ cao.

SÂM BỐ CHÍNH (RỄ)

Radix Abelmoschi sagittifolii

Bồ chính sâm, Thổ hào sâm, Nhân sâm Phú Yên

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Sâm bố chính [*Abelmoschus sagittifolius* (Kurz) Merr.], họ Bông (Malvaceae).

Mô tả

Rễ củ hình trụ, đầu dưới thuôn nhỏ, dài 10 cm trở lên, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm, đôi khi phân nhánh. Mặt ngoài màu trắng ngà, có nhiều nếp nhăn và vết

sẹo của rễ con. Mặt bẻ màu trắng, có nhiều bột, không có xơ. Mùi hơi thơm, vị nhạt và nhầy.

Vĩ phẫu

Lớp vỏ gồm 3 đến 6 hàng tế bào, có khi tới 10 hàng đến 15 hàng. Mô mềm vỏ cấu tạo bởi tế bào hình nhiều cạnh, chứa hạt tinh bột. Rải rác trong mô mềm có các tinh thể calci oxalat hình cầu gai và các túi tiết chất nhầy. Bó libe hình nón, rải rác có vài đám sợi. Bó gỗ cấu tạo bởi những đám mạch gỗ rải rác trong mô mềm gỗ. Tia ruột gồm 2 đến 3 hàng tế bào từ vùng gỗ ra tới vùng libe thì loe thành hình phễu. Tế bào tia ruột cũng chứa tinh bột.

Bột

Bột màu trắng ngà hay vàng nhạt, có nhiều hạt tinh bột riêng lẻ, hình dạng thay đổi, kích thước từ 12 µm đến 34 µm, có khi 2 đến 3 hạt dính với nhau. Sợi libe có thành hơi dày, rộng khoảng 20 µm. Mạch mạch điểm, mạch mạng. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mạch mô mềm gồm nhiều tế bào chứa tinh bột.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *nước cất*, lắc trong 15 phút, lọc qua bông thu được dung dịch A.

Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 %* (TT), dung dịch có màu vàng chanh.

Lấy 2 ml đến 3 ml dung dịch A, thêm vài giọt *dung dịch chì acetat 20 %* (TT), sẽ có tủa trắng.

B. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại (365 nm), bột dược liệu phát quang màu trắng sáng.

C. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 96 %* (TT), đun cách thủy 10 phút, để nguội, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *dung dịch natri hydrocarbonat 5 %* (TT), đun cách thủy trong 3 phút, để nguội. Thêm 1 đến 2 giọt *thuốc thử Diazo* (TT), màu đỏ cam xuất hiện.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu đã qua rây có kích thước mắt rây 2 mm, cho vào bình nón thêm *ethanol 25 %* (TT) ngập dược liệu, siêu âm nhiều lần ở nhiệt độ 40 °C đến 45 °C đến hết chất nhầy {kiểm tra bằng *dung dịch chì acetat 20 %* (TT): Lấy 1 ml dịch chiết lần cuối cùng, thêm vài giọt *dung dịch chì acetat 20 %* (TT), không còn tủa nữa là được}. Gộp các dịch chiết ethanol lại, bốc hơi dịch chiết đến dạng cao lỏng

(1/5). Kết tủa chất nhầy bằng *dung dịch chì acetat 20 % (TT)* (dùng 15 ml đến 20 ml). Lọc qua giấy lọc đã cân bì trước. Rửa tủa trên giấy lọc đến khi nước rửa hết phản ứng của chì [kiểm tra bằng *dung dịch natri sulfat 10 % (TT)*: lấy 1 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch natri sulfat 10 % (TT)*, khi không còn tủa trắng là được]. Sấy khô tủa ở 110 °C đến khối lượng không đổi và cân.

Dược liệu phải chứa không ít hơn 25,0 % chất chiết được bằng *ethanol 25 % (TT)* tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, đông. Đào lấy rễ củ, loại bỏ rễ con, phơi hoặc sấy khô. Có thể đồ chín hoặc ngâm nước gạo, vớt ra rửa sạch, đồ chín rồi phơi khô.

Bào chế

Rễ khô đã loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái phiến phơi khô. Khi dùng có thể chế Gừng.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, đậm, bình. Vào hai kinh tỳ, phế.

Công năng, chủ trị

Bổ khí, ích huyết, sinh tân dịch, chỉ khát, chỉ ho, trừ đờm. Chủ trị: Cơ thể suy nhược, hư lao, kém ăn, kém ngủ, thần kinh suy nhược, hoa mắt, chóng mặt, đau dạ dày, tiêu chảy, ho, viêm họng, viêm phế quản.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, tán bột, hoặc ngâm rượu uống.

Kiêng kỵ

Thẻ tạng hư hàn, phải chích gừng. Không dùng chung với Lê lô.

SÂM CAU (Thân rễ)

Rhizoma Curculiginis

Tiên mao

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.), họ Thủy tiên (*Amaryllidaceae*).

Mô tả

Thân rễ hình trụ, hơi cong queo, dài 3 cm đến 10 cm, đường kính 4 mm đến 12 mm. Mặt ngoài màu nâu đen tới màu nâu, xù xì, có các lỗ sẹo rễ con và nhiều vết nhăn ngang. Chất cứng và giòn, dễ bẻ gãy, mặt gãy không phẳng, màu nâu nhạt tới nâu hoặc nâu đen ở giữa. Mùi thơm nhẹ, vị đắng và cay.

Vi phẫu

Lớp bần có 3 đến 10 hàng tế bào. Vỏ rộng, thường thấy các bó mạch là vết tích của các rễ con, các tế bào

ở mép vỏ chứa tinh thể calci oxalat, nội bì rõ. Các bó mạch của trụ giữa chồng kép, rải rác. Tế bào chứa chất nhầy rải rác trong mô mềm, hình hơi tròn, đường kính 60 µm đến 200 µm, có chứa cụm tinh thể calci oxalat dài 50 µm đến 180 µm. Tế bào mô mềm chứa đầy hạt tinh bột.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - methanol - acid formic* (10 : 1 : 0,1).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 30 phút, lọc. Bay hơi dịch lọc tới cạn, hòa tan cạn trong 1 ml *ethyl acetat (TT)*, dùng lớp trên làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Sâm cau (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng.

Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc với vết đặt được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Hoặc phun lên bản mỏng hỗn hợp dung môi gồm *dung dịch kali ferrocyanid 2 % (TT)* và *dung dịch sắt (III) clorid (TT) 2 % (1 : 1)*. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc với vết đặt được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Rễ con và gốc thân: Không quá 4 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 7,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Cây được thu hái vào mùa thu hay mùa đông. Đào lấy củ, loại bỏ đuôi và rễ sợi, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái lát, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn, hơi độc. Quy kinh can thận.

Công năng, chủ trị

Bổ thận tráng dương, cường cân cốt, khử hàn trừ thấp. Chủ trị: Liệt dương, di tinh đau nhức cơ khớp do hàn, chân tay yếu mềm, ỉa chảy sợ lạnh.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g. Thường phối hợp với các thuốc khác.

SÂM ĐẠI HÀNH (Thân hành)

Bulbus Eleutherinis subaphyllae

Sâm cau, Tỏi lào, Hành lào

Thân hành đã phơi hay sấy khô của cây Sâm đại hành (*Eleutherine subaphylla* Gagnep.), họ Lay ơn (*Iridaceae*).

Mô tả

Thân hành (quen gọi là củ) tròn như củ hành hay dài, đường kính chỗ lớn nhất 1 cm đến 2 cm, dài 4 cm đến 5 cm, bên ngoài có một vại lớp vảy khô, phần trên màu nâu, phần dưới màu đỏ, các lớp bên trong màu đỏ tươi như máu. Cắt ngang củ thấy màu đỏ nhạt xen lẫn những vòng đồng tâm màu trắng. Củ còn mang một ít rễ nhỏ, dài 1 cm đến 3 cm.

Vì phẫu

Cắt ngang lớp vảy mỏng nước thấy: Biểu bì ngoài gồm một hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn. Mô mềm có nhiều hạt tinh bột và tinh thể calci oxalat hình que. Bó libe-gỗ chôn xếp hình trái xoan nằm giữa lớp mô mềm, libe bao bọc hai đầu, gỗ ở giữa, mạch gỗ ít, xếp lộn xộn, lớp biểu bì trong gồm một hàng tế bào hình chữ nhật, mỏng hơn biểu bì ngoài.

Bột

Bột màu hồng, vị lúc đầu hơi đắng, sau ngọt. Soi kính hiển vi thấy nhiều hạt tinh bột đa dạng, kích thước mỗi hạt 1,6 µm đến 40 µm, một số hạt nhìn rõ rốn. Tinh thể calci oxalat hình que, có loại đầu nhọn trông như đầu bút chì, có loại đầu tù. Mạch mạch. Mạch mô mềm chứa hạt tinh bột. Mạch biểu bì ngoài. Mạch biểu bì trong.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g được liệu cắt nhỏ.

Tạp chất

Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Thu hoạch từ cây 1 năm tuổi trở lên. Khi cây tàn lụi, đào lấy thân hành, cắt bỏ phần rễ, lá, rửa sạch thái dọc

củ thành lát, phơi hoặc sấy khô (dưới 60 °C). Để nguyên miếng hoặc tán bột. Nếu chưa dùng thì sau khi đào củ, rửa sạch đất, để nguyên cả lớp rễ và vỏ ngoài, tách ra từng củ, vùi vào cát ẩm để cho củ lâu khô.

Bảo quản

Phân củ khô để nơi thoáng mát, tránh mốc mọt. Củ tươi vùi vào cát ẩm hoặc nơi ẩm.

Tính vị, quy kinh

Cam, ôn. Vào các kinh can, tỳ, phế.

Công năng, chủ trị

Tư âm, dưỡng huyết, chỉ huyết, sinh cơ, chỉ khái, tiêu độc. Chủ trị: Thiếu máu, vàng da, hoa mắt, nhức đầu, mệt mỏi, băng huyết, ho ra máu. Thương tích tụ huyết (giã đắp), ho gà, viêm họng, tê bại do suy dinh dưỡng, mụn nhọt, lở ngứa.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 12 g thuốc sắc, hãm, bột hoặc thuốc viên.

SÂM VIỆT NAM (Thân rễ và Rễ)

Rhizoma et Radix Panacis vietnamensis

Sâm Ngọc Linh, Sâm K5

Thân rễ và rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.), họ Nhân sâm (*Araliaceae*).

Mô tả

Thân rễ thường nhiều đốt, cong ngoằn ngoèo, ít khi có hình trụ thẳng, dài 3 cm đến 15 cm, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu nâu hay màu vàng xám, có những vết nhăn dọc, mảnh; những vết vân ngang nổi rõ chia thân rễ thành nhiều đốt, đặc biệt có nhiều sẹo do thân khí sinh hàng năm tàn lụi để lại. Thể chất cứng chắc, giòn, dễ bẻ, mặt bẻ lõm chớm, màu xám nhạt. Mùi thơm nhẹ đặc trưng, vị đắng, hơi ngọt.

Rễ củ có dạng hình con quay dài 2,4 cm đến 4 cm, đường kính 1,5 cm đến 2 cm (ở cây mọc hoang), thường hợp thành bó 2 đến 4 rễ củ hình thoi, đôi khi có rễ trụ dài (ở cây trồng). Rễ củ có màu nâu nhạt, có những vân ngang và nốt các rễ con. Thể chất nạc, chắc, khó bẻ gãy. Vị đắng, hơi ngọt.

Vì phẫu

Thân rễ: Lớp bần gồm 4 đến 6 hàng tế bào hình chữ nhật, thành hơi cong, màu lục, lớp ngoài thường bị bong rách ra. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình nhiều cạnh thường dày lên ở góc, chứa nhiều ống tiết và tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Tầng sinh libe-gỗ liên tục, các bó libe-gỗ có dạng hình thoi, phân cách nhau bởi tia tùy rộng. Gỗ gồm những tế bào thành dày, đặt trong mô mềm gỗ ít hóa gỗ. Ruột cấu tạo bởi các tế bào có thành dày lên ở góc hay để hở những

khoảng gian bào, ống tiết thường ở vị trí ứng với các bó libe-gỗ ở cả phía trong lẫn phía ngoài.

Rễ củ: Lớp bản gồm 4 đến 7 lớp tế bào hình chữ nhật, các lớp ngoài thường bị bong ra. Mô mềm vỏ rộng, chiếm một nửa bán kính của rễ; gồm nhiều tế bào màng mỏng, kích thước và hình dạng thay đổi, chứa nhiều ống tiết và tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Ống tiết chứa chất tiết màu nâu đen hay vàng nâu tập trung ở vùng libe và xếp thành nhiều vòng. Tầng sinh libe-gỗ liên tục gồm một lớp tế bào hình chữ nhật dẹt. Libe-gỗ xếp thành từng bó riêng lẻ, kéo dài theo hướng xuyên tâm. Tế bào gỗ thành dày, mô mềm gỗ không hóa gỗ. Tia tùy rộng gồm nhiều tế bào xếp theo hướng xuyên tâm.

Bột

Màu vàng nâu. Vị đắng hơi ngọt. Soi kính hiển vi thấy: những hạt tinh bột riêng lẻ hay hợp thành đám, hình bầu dục, hình cầu, kích thước không đều, rốn hạt là một vạch. Mảnh bản với những tế bào hình nhiều cạnh, thành dày màu vàng nâu. Mảnh mô mềm gồm những tế bào màng mỏng, màu trắng hay vàng nhạt. Mảnh mạch vạch, mạch mạng. Rải rác có chất tiết màu vàng nâu hay nâu đen. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai hay hình khối.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, cho thêm 5 ml *methanol* (TT). Đun cách thủy trong 10 phút, để nguội, lọc, được dịch chiết A.

Cho vào ống nghiệm vài giọt dịch chiết A, thêm 3 ml đến 5 ml nước cất, lắc đều, cột bột cao và bền trong 15 phút.

Cho vào ống nghiệm 0,5 ml dịch chiết A, cô đến cạn. Thêm *dung dịch stibi trichlorid bão hòa trong cloroform* (TT), khuấy đều. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, dung dịch có huỳnh quang xanh.

B. Phương pháp sắc kí lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - nước* (65 : 35 : 10, lớp dưới).

Dung dịch thử: Dung dịch chiết A.

Dung dịch đối chiếu: Hòa 1 mg majonosid R2 trong 1 ml *methanol* (TT) để làm chuẩn.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl cho mỗi dung dịch thử và dung dịch majonosid R2. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol* (TT). Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có một vết chính màu hồng tím đậm và có giá trị R_f tương đương với majonosid R2 ở dưới ánh sáng thường và cho phát quang vàng dưới ánh sáng tử ngoại (365 nm).

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 2 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất

Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch thân rễ và rễ củ vào tháng 9 đến 12 trong năm, lấy về rửa sạch, phơi nắng hay sấy khô ở nhiệt độ dưới 60 °C.

Bảo quản

Để nơi khô ráo trong các thùng đậy kín có chứa chất hút ẩm, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, cam. Vào hai kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị

Bổ khí, bổ phế. Chủ trị: Cơ thể suy nhược, phế hư viêm họng, đau họng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 10 g, dạng thuốc sắc, tán bột.

Kiêng kỵ

Thế tạng hư hàn, phải chích gừng. Không dùng chung với Lê lô.

SẢN DÂY (Rễ củ)

Radix Puerariae thomsonii

Cát căn

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Sản dây (*Pueraria thomsonii* Benth.), họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Rễ củ đã cạo lớp bản bên ngoài, hình trụ, hoặc hình bán trụ, dài 12 cm đến 15 cm, đường kính 4 cm đến 8 cm, có khi là những lát cắt dọc hoặc vát, dày, có kích thước khác nhau. Mặt ngoài màu trắng hơi vàng, đôi khi còn sót lại ở các đường rãnh dọc một ít lớp bản màu nâu. Chất cứng, nặng và nhiều bột. Mặt cắt ngang có nhiều sợi tạo thành những vòng đồng tâm màu nâu nhạt; mặt cắt dọc có nhiều vân dọc do các sợi tạo nên. Mùi thơm nhẹ, vị hơi ngọt, mát.

Vị phẫu

Cắt ngang rễ đôi khi thấy lớp bản còn sót lại từng mảng màu nâu, gồm nhiều tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình nhiều cạnh không đều, màng mỏng. Trong mô mềm vỏ có libe-gỗ cấp 3 xếp thành một vòng đồng tâm hoặc thành từng vòng nhỏ. Libe cấp 2 hình nón, trong có nhiều đám sợi. Tầng sinh libe-gỗ thành vòng liên tục, gồm nhiều tế

bào dẹt, có màng mỏng. Gõ cấp 2 ít phát triển, rải rác có mạch gỗ với lớp mỏng mô mềm gỗ và những đám sợi nhỏ. Tia ruột khá rộng, loe ra ở phần mô mềm vỏ. Trong mô mềm vỏ còn chứa nhiều hạt tinh bột và rải rác có tinh thể calci oxalat hình khối.

Soi bột

Bột màu trắng hơi vàng, soi kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột, hạt đơn hình chòm cầu, hình gần tròn hoặc hình nhiều cạnh, đường kính 3 μm đến 37 μm , rốn hình chấm, hình khe nứt hoặc hình sao; hạt kép gồm 2 hạt đến 10 hạt. Sợi thường tụ lại thành bó, thành dày và hóa gỗ, xung quanh là các tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ tạo thành các sợi tinh thể. Các tế bào chứa tinh thể calci oxalat này có thành dày, hóa gỗ. Ít khi nhìn thấy tế bào đá hình gần tròn hoặc hình nhiều cạnh, đường kính 38 μm đến 70 μm . Mạch khá rộng, có đường viền lõm vào, vết lõm hình 6 cạnh, hình elip được sắp xếp rất dày đặc.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel 60F₂₅₊.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (7 : 2,5 : 0,25).

Dung dịch thử: Lấy 0,8 g bột thô dược liệu, thêm 20 ml methanol (TT), lắc đều, ngâm trong 2 giờ, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cần trong 1 ml ethanol (TT) làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan puerarin chuẩn trong methanol (TT) để có nồng độ khoảng 1 mg/ml.

Nếu không có chuẩn puerarin thì có thể dùng 0,8 g bột thô Sắn dây (mẫu chuẩn) chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 14 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, soi bản mỏng dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm hoặc 366 nm.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử xuất hiện một số vết, trong đó phải có một vết chính có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết puerarin của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng bột Sắn dây chuẩn để chuẩn bị dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C đến 105 °C, đến khối lượng không đổi).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Rễ củ sắn dây được thu hoạch vào mùa thu hay mùa đông đào lấy rễ củ, rửa sạch, cạo bỏ vỏ ngoài, phơi hoặc sấy khô một phần, cắt thành khúc hay bỏ dọc củ hay thái lát dày hoặc miếng và phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát và phơi khô.

Bảo quản

Đề nơi thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, cam, lương bình. Quy vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Giải cơ, thoát nhiệt, thấu chẩn, sinh tân chỉ khát, thăng tỳ dương để chỉ tả. Chủ trị: Sốt, cứng gáy, khát, tiêu khát, sỏi chưa mọc, lỵ, ỉa chảy do ngoại tà.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, phối hợp trong các bài thuốc.

SEN (Hạt)

Semen Nelumbinis nuciferae

Liên nhục

Hạt còn màng mỏng của quả già đã phơi hay sấy khô của cây Sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.), họ Sen (Nelumbonaceae).

Mô tả

Hạt hình trái xoan, dài 1,1 cm đến 1,3 cm, đường kính 0,9 cm đến 1,1 cm. Mặt ngoài còn màng mỏng màu nâu, có nhiều đường vân dọc. Ở đầu trên có núm màu nâu sẫm. Bóc màng ngoài màu nâu để lộ hai lá mầm bằng nhau và xếp úp vào nhau, màu trắng ngà, hạt chứa nhiều tinh bột. Giữa hai lá mầm có hai đường rãnh dọc đối xứng nhau. Chồi mầm màu xanh lục, nằm ở giữa đường rãnh dọc của hai lá mầm.

Bột

Có nhiều hạt tinh bột hình trứng, rộng 2 μm đến 6 μm , dài 4 μm đến 14 μm , có khi dài tới 32 μm ; hoặc hình tròn có đường kính 2 μm đến 19 μm , rốn phân nhánh, vân không rõ. Mảnh mô mềm của lá mầm gồm tế bào chứa tinh bột. Mảnh vỏ hạt rải rác có tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đôi khi có mảnh mạch.

Định tính

A. Đặt một ít bột dược liệu lên phiến kính, nhỏ một giọt *dung dịch ninhydrin 2 % (TT)*, hơi nóng, đẩy một lá kính lên, soi kính hiển vi thấy bột có màu tím; nhỏ thêm một giọt *alcol isoamylic (TT)*, bột chuyển sang màu hơi hồng.

B. Đặt một ít bột dược liệu lên phiến kính, nhỏ một giọt *dung dịch 2,4 - dinitrophenyl hydrazin hydroclorid*

(TT), rồi đập lá kính lên, soi kính hiển vi thấy ở mép kính có tinh thể hình kim màu vàng.

C. Lấy khoảng 1 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm rồi thêm 10 ml *ethanol* 90 % (TT), đun sôi 5 phút, lọc, dịch lọc có màu vàng nhạt. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *thuốc thử Fehling* (TT), đun sôi, xuất hiện tủa đỏ gạch.

Độ ẩm

Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Hạt vỡ: Không quá 5,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 0,15 %.

Chế biến

Vào mùa thu, lấy quả bé ở gương sen chín già, loại vỏ cứng bên ngoài, phơi hoặc sấy ở 50 °C đến 60 °C cho đến khô.

Bào chế

Lấy hạt ngâm nước một lát, ủ mềm, loại bỏ tâm sen, phơi hoặc sấy khô hạt.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, sáp, bình. Vào các kinh tỷ, thận, tâm.

Công năng, chủ trị

Bổ tỳ, dưỡng thận, sáp trường, cố tinh, dưỡng tâm, an thần. Chủ trị: Ỉa chảy lâu ngày, di tinh, đờm hạ, tim đập hồi hộp, mất ngủ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 15 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiểm kỵ

Thực nhiệt, táo bón không nên dùng.

SEN (Lá)

Folium Nelumbinis nuciferae

Liên diệp

Lá bánh tẻ đã bỏ cuống, phơi hoặc sấy khô của cây Sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.), họ Sen (Nelumbonaceae).

Mô tả

Lá nguyên hình tròn, nhẵn nheo, nhàu nát, đường kính 30 cm đến 60 cm, mặt trên màu lục tro, hơi nháp, mặt dưới màu lục nâu, nhẵn bóng, mép nguyên, ở giữa lá có vết tích của cuống lá lồi lên màu nâu. Lá có từ 17 đến 23 gân tỏa tròn hình nan hoa bánh xe. Gân lồi về phía mặt dưới lá. Lá khô giòn, dễ vụn nát, có mùi thơm.

Vi phẫu

Biểu bì trên gồm một lớp tế bào hình chữ nhật nhỏ, mặt ngoài có núp lồi lên. Biểu bì dưới có tầng cutin dày. Mô mềm giậu có một lớp tế bào xếp sát biểu bì trên, chạy từ phiến lá qua gân lá. Mô dày ở gân lá cấu tạo bởi tế bào thành hơi dày, xếp thành đám sát biểu bì dưới. Tế bào mô mềm có thành mỏng. Xen kẽ giữa những tế bào mô mềm có nhiều khuyết to, kích thước không đều, xung quanh mỗi khuyết có nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Nhiều bó libe-gỗ kích thước khác nhau. Ở giữa gân có 2 bó libe-gỗ to, những bó libe-gỗ nhỏ xếp rải rác xung quanh. Mỗi bó libe-gỗ có vòng mô cứng bao bọc, gỗ phía trên, libe phía dưới.

Bột

Mảnh biểu bì trên gồm tế bào hình nhiều cạnh, kích thước không đều, thành ít nhẵn nheo, có lỗ khí ở dạng biến thiên. Thành phía ngoài của tế bào biểu bì có nhiều núp lồi lên. Núp nhìn phía dưới mặt là những vòng tròn nhỏ, rải rác có những núp bị tách khỏi biểu bì hình ba cạnh hay hình chuông. Mảnh biểu bì dưới gồm tế bào thành nhẵn nheo. Sợi thành hơi dày, có khoang rộng. Có mảnh mạch mạng, mạch xoắn. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đường kính 25 µm đến 36 µm.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml nước đun sôi, lắc, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT) sẽ xuất hiện tủa xanh đen.

B. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào bình nón có dung tích 100 ml, thêm 50 ml *ethanol* 90 % (TT), lắc kỹ, rồi đun trong cách thủy sôi trong 30 phút, lọc. Cô dịch lọc còn khoảng 3 ml. Lấy 2 ml dịch lọc, thêm 5 giọt đến 10 giọt *acid hydrocloric* (TT) và một ít bột *magnesi* (TT) hoặc bột *kẽm* (TT). Đun cách thủy 2 đến 3 phút, dung dịch chuyển từ màu vàng sang đỏ.

C. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *acid hydrocloric* 1 % (TT), lắc 15 phút, lọc. Kiểm hóa dịch lọc bằng *dung dịch amoniac* 10 % (TT) đến pH 9 đến 10. Chiết alkaloid bằng *cloroform* (TT) ba lần, mỗi lần 5 ml. Gộp dịch chiết cloroform (dung dịch A). Để lại 1 ml dung dịch A làm dung dịch thử trong phép thử D; đem lắc dịch chiết cloroform với *dung dịch acid hydrocloric* 1 % (TT) hai lần, mỗi lần 5 ml. Gộp dịch chiết acid chia vào 4 ống nghiệm:

Ống 1: Thêm 1 đến 2 giọt *thuốc thử Mayer* (TT), sẽ xuất hiện tủa trắng.

Ống 2: Thêm 1 đến 2 giọt *thuốc thử Bouchardat* (TT), sẽ xuất hiện tủa đỏ nâu.

Ống 3: Thêm 1 đến 2 giọt *thuốc thử Dragendorff* (TT), sẽ xuất hiện tủa đỏ cam.

Ống 4: Thêm 1 đến 2 giọt *dung dịch acid picric* 10 % (TT), sẽ xuất hiện tủa vàng.

D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - amoniac đậm đặc* (50 : 9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 ml dung dịch A cô trên cách thủy đến còn khoảng 0,5 ml.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 1 mg nuciferin chuẩn trong 1 ml *cloroform* (TT). Nếu không có nuciferin, có thể dùng Lá sen (mẫu chuẩn) và chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun thuốc thử *Dragendorff* (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử xuất hiện nhiều vết, trong đó có vết có màu sắc và giá trị R_f giống vết của nuciferin chuẩn đạt được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng lá Sen để chiết dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Cuồng lá còn sót lại: Không quá 2 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Kim loại nặng

Không quá 10 phần triệu Pb; 0,5 phần triệu Cd; 0,4 phần triệu Hg, 8 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc* (TT), để 1 giờ, sau đó cho vào túi làm bằng giấy lọc, đặt vào bình Soxhlet, chiết bằng *ethanol 96 %* (TT) cho đến kiệt alkaloid (Phụ lục 12.3, dùng thuốc thử *Bouchardat*). Cát thu hồi dung môi, hòa tan cần trong dung dịch acid hydrocloric 5 % (TT) (5 lần, mỗi lần 5 ml). Lọc, rửa dịch lọc acid bằng *ether dầu hòa* (TT) 3 lần, mỗi lần 10 ml. Kiểm hóa dịch chiết acid bằng *amoniac đậm đặc* (TT) đến pH 10, sau đó lắc với *cloroform* (TT) 5 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết cloroform, rửa dịch cloroform bằng nước cất đến pH trung tính rồi bốc hơi dung môi tới khô. Hòa tan cần với một lượng chính xác 10 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ). Thêm 5 ml nước cất và 2 giọt đỏ methyl (TT). Chuẩn độ dung dịch acid hydrocloric 0,1 N thừa bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ).

Hàm lượng alkaloid toàn phần (X) trong lá Sen tính bằng phần trăm theo công thức:

$$X\% = \frac{(10 - n) \times 2,95}{a}$$

Trong đó:

n là số ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) đã dùng;

a là khối lượng bột dược liệu đem định lượng đã trừ độ ẩm (g).

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,8 % alkaloid toàn phần tính theo nuciferin, $C_{19}H_{21}O_2N$, trên dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái vào mùa hạ và mùa thu, khi cây bắt đầu nở hoa, cắt lấy lá bánh tẻ, phơi nắng cho khô 7 đến 8 phần 10, cắt bỏ cuống, gấp lá thành hình bán nguyệt, phơi tiếp đến khô.

Bào chế

Lá Sen (Hà diệp) khô, phun nước cho hơi mềm, thái thành các dải, miếng, phơi hoặc sấy khô.

Lá sen thán sao (Hà diệp thán): Lấy lá Sen sạch đã thái thành dải, cho vào nồi kín, nung chín kỹ, để nguội, lấy ra.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Vị khô, bình. Vào ba kinh can, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Giải thử, kiện tỳ, lương huyết, chỉ huyết. Chủ trị: trúng thử, hao khát, ỉa chảy do thử thấp, huyết lỵ; nôn máu, đờ máu cam, đái máu do huyết nhiệt.

Thán lá Sen: Chỉ huyết hóa ứ, chữa các loại chảy máu và băng kinh rong huyết.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g dược liệu khô, dược liệu tươi dùng từ 15 g đến 30 g.

Thán lá sen: Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc hay hoàn tán.

SEN (Cây mầm)

Embryo Nelumbinis nuciferae

Liên tâm, Tâm sen

Tâm sen là cây mầm lấy từ hạt cây Sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.), họ Sen (Nelumbonaceae).

Mô tả

Tâm sen dài khoảng 1 cm, rộng khoảng 0,1 cm, phần trên là chồi mầm màu lục sẫm, gồm 4 lá non gấp vào trong. Phần dưới là rễ và thân mầm hình trụ màu vàng nhạt, mặt cắt ngang có nhiều lỗ hồng (xem bằng kính lúp).

Vì phẫu

Biểu bì gồm một lớp tế bào xếp đều đặn. Tế bào mô mềm tròn thành mỏng. Có nhiều bó libe-gỗ kích thước to dần tại những bó libe-gỗ ở vòng phía trong. Mỗi bó libe-gỗ gồm libe phía ngoài, gỗ phía trong. Có nhiều khuyết to xếp thành một vòng xen giữa hai vòng bó libe-gỗ trong cùng.

Bột

Màu lục sẫm, vị đắng. Soi kính hiển vi thấy mảnh mô mềm gồm nhiều tế bào chứa diệp lục. Hạt tinh bột hình cầu hay hình trứng, đường kính 4 µm đến 6 µm có khi tới 15 µm. Mảnh biểu bì.

Định tính

A. Cân khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol* 90 % (TT), đun cách thủy 5 phút, sau đó gạn lọc qua bông. Dịch lọc đem cô đến cạn và hòa tan cần với 5 ml *dung dịch acid sulfuric* 5 % (TT), lọc lấy dịch lọc. Cho vào 4 ống nghiệm mỗi ống 1 ml dịch lọc để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer* (TT), xuất hiện tủa trắng.

Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff* (TT), xuất hiện tủa đỏ.

Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Boucharlat* (TT), xuất hiện tủa nâu

Ống 4: Thêm 2 giọt *thuốc thử acid picric* (TT), xuất hiện tủa vàng

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac (50 : 9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng 1 ml *amoniac đậm đặc* (TT). Thêm 10 ml *cloroform* (TT) để yên trong 20 phút, thỉnh thoảng lắc, sau đó lọc qua bông. Chuyển dịch lọc vào bình gạn nhỏ, lắc lại với *dung dịch acid sulfuric* 5 % (TT), tách lớp acid, kiểm hóa rồi lắc lại với *cloroform* (TT) và lấy dịch chiết cloroform cô cách thủy còn khoảng 0,5 ml dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan nuciferin chuẩn vào *cloroform* (TT) để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml. Nếu không có nuciferin, có thể dùng 1 g Tâm sen (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, phun *thuốc thử Dragendorff* (TT). Trên sắc ký đồ ít nhất có 5 vết màu đỏ cam, trong đó phải có vết có cùng màu và giá trị R_f với vết nuciferin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng Tâm sen để chiết dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 0,3 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng

Không quá 10 phần triệu Pb; 1 phần triệu Cd; 0,4 phần triệu Hg, 1 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Định lượng

Tiến hành như trong chuyên luận “Sen (lá)”. Tâm sen phải chứa ít nhất 1,0 % alcaloid toàn phần tính theo nuciferin trên dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Lấy quả bé ở gương sen đã chín già, loại bỏ vỏ cứng bên ngoài, ngâm, ủ cho mềm, bỏ lớp vỏ lụa đỏ, thông lấy tâm sen, phơi hay sấy nhẹ 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn. Quy vào các kinh tâm, thận.

Công năng, chủ trị

Thanh tâm, trừ nhiệt, chỉ huyết, sáp tinh. Chủ trị: Tâm phiền mất ngủ, di tinh, thổ huyết.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 2 g đến 5 g, phối hợp trong các bài thuốc.

SƠN THÙ (Quả)***Fructus Corni officinalis*****Sơn thù du**

Quả chín đã phơi hay sấy khô, bỏ hạt của cây Sơn thù du (*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.), họ Thù du (Cornaceae).

Mô tả

Quả bị vỡ, nhăn nheo do bị tách bỏ hạt. Quả hình trứng, dài 1 cm đến 1,5 cm, rộng 0,5 cm đến 1 cm. Mặt ngoài màu đỏ tía đến tím đen, nhăn nheo, sáng bóng. Đỉnh quả có vết sẹo hình tròn của đài, đáy quả có vết của cuống quả. Chất mềm, mùi nhẹ, vị chua, đắng nhẹ.

Bột

Màu nâu đỏ. Tế bào biểu bì vỏ quả có hình đa giác hoặc hình chữ nhật, đường kính 16 µm đến 30 µm, mặt ngoài tế bào biểu bì dày, sần sùi, cutin hóa. Khoang chứa sắc tố màu vàng cam nhạt. Tế bào vỏ quả giữa màu nâu vàng cam, phần nhiều bị nhăn. Cụm tinh thể calci oxalat có đường kính 12 µm đến 32 µm ít thấy. Tế bào đá hình vuông, hình trứng, hình chữ nhật, các lỗ rõ và có một khoang lớn. Nhiều hạt tinh bột hình trứng, đôi khi có rốn phân nhánh và vân mờ. Mảnh mạch điểm, mạch vạch, mạch vòng.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluene - ethyl acetat - acid formic (20 : 4 : 0,5).

Dung dịch thử: Cân khoảng 0,5 g bột dược liệu thô, thêm 10 ml *ethyl acetat* (TT), siêu âm 15 phút, lọc, bốc hơi dịch lọc đến cạn, hòa lẫn trong 2 ml *ethanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Cân một lượng acid ursolic chuẩn, hòa tan trong *ethanol* (TT) để được dung dịch chứa 1 mg/ml. Nếu không có chất chuẩn, dùng khoảng 0,5 g bột Sơn thù (mẫu chuẩn) rồi chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol* (TT), sấy ở 105 °C tới khi các vết xuất hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải xuất hiện vết màu đỏ tím có cùng màu và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch acid ursolic đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu chuẩn đối chiếu. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải xuất hiện vết có huỳnh quang màu vàng cam có cùng màu và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch acid ursolic đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Hạt và cuống quả còn sót lại: Không quá 3,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8) .

Tro không tan trong acid

Không quá 0,5 % (Phụ lục 9.7) .

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 50,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào cuối mùa thu, đầu mùa đông, thu hái khi vỏ quả chuyển sang màu đỏ, sấy ở nhiệt độ thấp hoặc nhúng vào nước sôi cho chín tái rồi kịp thời bóc bỏ hạt, lấy cùi, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế

Sơn thù nhục: Loại bỏ tạp chất và hạt quả còn sót lại.

Từ Sơn thù nhục (sao rượu): Lấy Sơn thù nhục sạch trộn đều với rượu, cho vào lọ hoặc bình, đậy kín, đun

cách thủy đến khi hút hết rượu, lấy ra, sao khô là được. Cứ 10 kg Sơn thù nhục, dùng khoảng 0,60 đến 1 lít rượu.

Bảo quản

Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh

Toan, sáp, vị ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Bổ can thận, cố tinh sáp niệu. Chủ trị: di mộng tinh, tiểu tiện nhiều, đái dầm, đau lưng gối, ù tai, mờ mắt nhiều, phụ nữ bị khí hư, rong kinh, rong huyết.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ

Dùng thận trọng khi tiểu khó, ít.

SƠN TRA (Quả)***Fructus Mali***

Quả chín đã thái phiến được phơi hay sấy khô của cây Sơn tra (*Malus doumeri* Bois. A. Chev.) họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả

Quả thịt hình cầu, vỏ quả ngoài màu nâu bóng, nhăn nheo, phần thịt quả màu nâu, cứng chắc, ở giữa có 5 hạch cứng. Dược liệu khô là quả được cắt thành từng phiến dày khoảng 0,2 cm đến 0,5 cm, đường kính khoảng 1,5 cm đến 3,0 cm. Phiến có dạng tròn hay bầu dục, hơi cong queo, một số phiến mang cuống quả, một số phiến có hoặc không có hạch cứng tùy theo vị trí cắt. Hạt màu nâu đen, hình trứng nhăn nheo, nhân hạt màu trắng ngà. Thịt quả có vị chua, chát.

Vi phẫu

Quả: Vỏ quả ngoài gồm một lớp tế bào biểu bì với lớp sáp dày bao bọc phía ngoài. Kế đến là nhiều lớp tế bào hình khối đa giác hay hơi thuôn dài có thành mỏng. Trong phần thịt quả rất dày, xen lẫn với các tế bào mô mềm, rải rác có nhiều tế bào mô cứng thành rất dày, ống trao đổi rõ, tụ thành đám gồm 2 đến 3 tế bào hay từng tế bào riêng lẻ. Một số lát cắt có thể nhìn thấy bó libe - gỗ bị cắt ngang hay cắt dọc trong phần thịt quả. Gần đến vùng tiếp giáp với hạt có nhiều đám mô cứng to và xếp sát nhau gần như tạo thành vòng liên tục. Tiếp theo phía trong của vùng mô cứng là lớp mô mềm bao gồm các tế bào thành mỏng. Vỏ quả trong, chỗ dính với hạt, có vòng tế bào mô cứng liên tục gồm các tế bào hình chữ nhật nằm ngang hoặc dọc, đan xen với nhau, thành dày, ống trao đổi rõ, khoang hẹp hơn tế bào mô cứng ở vùng vỏ quả giữa.

Hạt: Ngoài cùng là lớp tế bào vỏ hạt gồm nhiều tế bào hình chữ nhật, xếp theo hướng xuyên tâm. Tiếp theo là 3 đến 5 lớp tế bào hình chữ nhật xếp theo hướng tiếp tuyến, thành mỏng chứa nội chất màu nâu. Trong cùng là vài lớp tế bào mô mềm hình đa giác. Nhân hạt gồm 2 lá mầm xếp úp vào nhau, mỗi lá mầm có lớp biểu bì bao bọc ở mặt ngoài. Phần mô mềm ở vùng tiếp giáp của hai lá mầm gồm các tế bào hình giậu gồm 3 đến 5 hàng tế bào và kế tiếp là tế bào hình đa giác. Bó libe gỗ chưa phát triển rõ rệt, xếp rời nhau trên một hàng ở giữa lá mầm.

Bột

Bột màu nâu đỏ, khô toí, có ít xơ, mùi thơm, vị chua, chát.

Tế bào vỏ quả ngoài hình chữ nhật nhỏ, thường tách rời. Tế bào mô mềm thịt quả hình đa giác, thường dính thành đám, chứa chất màu nâu. Tế bào mô cứng của thịt quả gồm từng tế bào riêng lẻ hoặc chụm 2 đến 3 tế bào, đám tế bào mô cứng của hạch quả gồm nhiều tế bào hình chữ nhật khoang hẹp, thuần dài hơn. Mảnh vỏ hạt gồm các tế bào hình chữ nhật xếp khít nhau như mô giậu. Mô mềm lá mầm thường chứa giọt dầu béo. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn nhỏ và hiếm.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tỷ lệ vụn nát

Phần bột vụn nát và mảnh vỡ có đường kính nhỏ hơn 1,5 cm: Không quá 2 % (Phụ lục 12.12).

Tro toàn phần

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ nâu đen

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hái quả vừa chín, cắt thành lát dày khoảng 0,3 cm đến 0,7 cm, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Toan, cam, ôn. Vào các kinh tỷ, vị, can.

Công năng, chủ trị

Tiêu thực tích, hành ứ, hóa đàm. Chủ trị: Ăn không tiêu, đau bụng, đầy trướng, ợ chua, đàm ẩm, bụng kết hòn cục, sản hậu ứ huyết, đau bụng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 20 g, dạng thuốc sắc, bột hoặc viên. Thường dùng phối hợp với các vị thuốc khác.

TAM THẤT (Rễ củ)

Radix Panaxis notoginseng

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Tam thất [*Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen], họ Nhân sâm (Araliaceae).

Mô tả

Rễ củ có hình dạng thay đổi, hình trụ hay hình chùy, dài 1,5 cm đến 4,0 cm, đường kính 1,2 cm đến 2,0 cm. Mặt ngoài màu vàng xám nhạt, có khi được đánh bóng, trên mặt có những vết nhăn dọc rất nhỏ. Trên một đầu có những bấu nhỏ là vết tích của rễ con, phần dưới có khi phân nhánh. Trên đỉnh còn vết tích của thân cây. Chất cứng rắn, khó bẻ, khó cắt. Khi đập vỡ, phần gỗ và phần vỏ dễ tách rời nhau. Mặt cắt ngang có lớp vỏ màu xám nhạt, có những chấm nhỏ màu nâu (ống tiết), phần gỗ ở trong màu xám nhạt, mạch gỗ xếp hình tia tỏa tròn. Mùi thơm nhẹ đặc biệt, vị đắng hơi ngọt.

Vi phẫu

Lớp bản gồm 4 đến 5 hàng tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ chứa nhiều tinh bột, rải rác có những ống tiết chứa chất nhựa, đôi khi thấy tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Tầng sinh libe-gỗ thành vòng liên tục, các bó libe-gỗ cách nhau bởi những tia ruột rộng, gồm nhiều hàng tế bào (cũng chứa hạt tinh bột). Rất ít mạch gỗ.

Bột

Nhiều hạt tinh bột hình tròn, hình chuông hay hình nhiều cạnh, đường kính 3 µm đến 13 µm, đôi khi có hạt kép 2 đến 3. Mảnh mô mềm gồm tế bào hình nhiều cạnh, hoặc tròn, thành mỏng, có chứa tinh bột. Đôi khi thấy ống tiết trong có chất tiết màu vàng nâu. Mảnh bản gồm những tế bào hình chữ nhật hay nhiều cạnh. Đôi khi có tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh mạch mạng.

Định tính

A. Đặt một ít bột dược liệu trên khay sứ, nhỏ 1 giọt đến 2 giọt *acid acetic* băng (TT) và 1 giọt đến 2 giọt *acid sulfuric* đậm đặc (TT) sẽ xuất hiện màu đỏ, để yên màu đỏ sẽ sẫm dần lại.

B. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml *ethanol* 70 % (TT) đun trên cách thủy 10 phút, lọc. Lấy khoảng 1 ml dịch lọc pha loãng với nước cất thành 10 ml. Lắc mạnh 15 giây, có bột bền.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Lắc đều hỗn hợp *cloroform* - *ethyl acetat* - *methanol* - *nước* (15 : 40 : 22 : 10), gạt lấy lớp dưới.

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, trộn đều với 10 ml nước, thêm 10 ml *n-butanol* đã bão hòa nước (TT) vào hỗn hợp trên, lắc trong 10 phút, để yên trong

2 giờ. Lọc lấy dịch chiết butanol cho vào bình gạn. Thêm vào bình gạn 30 ml nước đã bão hòa butanol (TT), lắc kỹ, để yên cho tách lớp. Gạn lấy lớp butanol, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cặn trong 1 ml methanol (TT) làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Tam thất (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 120 °C cho đến khi xuất hiện rõ vết.

Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có màu sắc và giá trị R_f giống các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 16,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng methanol (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch cây trồng được 4 đến 7 năm vào mùa thu trước khi hoa nở. Đào lấy rễ củ, rửa sạch chia ra rễ chủ, rễ nhánh và gốc thân, phơi khô. Rễ nhánh quen gọi là Căn điều, gốc thân gọi là Tiễn khấu.

Bào chế

Rửa sạch Tam thất, phơi hoặc sấy khô ở 50 °C đến 70 °C, tán thành bột mịn.

Bảo quản

Nơi khô thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, vị khô, ôn. Vào kinh can, vị.

Công năng, chủ trị

Tán ứ chỉ huyết, tiêu sưng giảm đau. Chủ trị: Các loại chảy máu, nhất là chảy máu có ứ huyết như: thổ huyết, khô huyết, nục huyết, tiểu tiện ra huyết, sưng đau do chấn thương, ngực bụng đau nhói.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, tán bột, uống mỗi lần từ 1 g đến 3 g.

Dùng ngoài: Lượng thích hợp.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai.

TANG KÝ SINH

Herba Loranthi Gracilifolii

Tầm gửi trên cây dâu

Những đoạn thân cành và lá đã phơi khô, lấy từ cây Tầm gửi [*Loranthus gracilifolius* Schult. = *Taxillus gracilifolius* (Schult.) Ban], họ Tầm gửi (*Loranthaceae*), sống kí sinh trên cây Dâu tằm (*Morus alba* L.), họ Dâu tằm (*Moraceae*).

Mô tả

Những đoạn thân, cành hình trụ, dài 3 cm đến 4 cm, đường kính 0,3 cm đến 0,7 cm, có phân nhánh, những mấu lồi là vết của cành và lá. Mặt ngoài màu nâu xám, có nhiều lỗ bị nhỏ, đôi khi có những vết nứt ngang. Chất cứng rắn. Mặt cắt ngang thấy rõ ba phần: phần vỏ mỏng màu nâu, gỗ trắng ngà, ruột màu xám và xốp. Lá khô nhăn nhúm, nguyên hoặc bị cắt thành từng mảnh. Lá hình trái xoan, đầu và gốc phiến lá hơi nhọn, màu nâu xám, dài 3,5 cm đến 4,5 cm, rộng 2,5 cm đến 3,5 cm, cuống lá dài 0,4 cm đến 1,2 cm, gân lá hình mạng lưới.

Vi phẫu

Thân: Lớp vỏ gồm nhiều hàng tế bào nhỏ màu nâu, hình chữ nhật, mặt ngoài có những lỗ bị rải rác nổi lên. Mô mềm vỏ hẹp, tế bào to hơn tế bào vỏ và hơi kéo dài theo hướng tiếp tuyến. Có những đám sợi hình dạng không cố định làm thành một vòng quanh mô mềm vỏ và chứa tinh thể calci oxalat hình khối chữ nhật. Libe hẹp, bị tia ruột cắt ra thành từng đám đứng trước bó gỗ. Gỗ rất rộng, bị tia ruột chia thành từng bó, mạch gỗ thưa, mô mềm gỗ hóa gỗ rõ rệt. Tia ruột thường có 2 đến 4 dãy tế bào. Mô mềm ruột tế bào to, hình đa giác hoặc hơi tròn, rải rác có những đám sợi chứa tinh thể calci oxalat.

Lá: Tầng cutin tương đối dày. Biểu bì ít thấy lỗ khí. Mô mềm thịt lá chỉ có một loại tế bào hình đa giác. Mô mềm gân giữa lá tế bào hình đa giác, to nhỏ không đều. Libe-gỗ có khi rải rác thành hình cung, có khi thành bó. Nhiều đám sợi rải rác trong mô mềm gân lá, có khi xen vào bó libe-gỗ, chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Bột

Bột màu nâu, không mùi, vị nhạt, quan sát dưới kính hiển vi thấy: Các mảnh bản, mảnh biểu bì chứa lỗ khí, các lỗ khí có kích thước khoảng 25 μ m theo chiều dọc. Mảnh mô mềm gồm những tế bào to, thành mỏng. Mảnh phiến lá, tế bào mô cứng thành dày có chứa tinh thể calci oxalat, sợi riêng lẻ hay tập trung thành từng đám. Mảnh mạch điểm, mạch vạch, mạch vòng. Tinh thể calci oxalat hình khối thường hơi vuông kích thước khoảng 29 μ m. Hạt tinh bột tròn đường kính khoảng 20 μ m rốn hạt là một điểm hoặc phân nhánh; đôi khi có hạt phần 3 cạnh.

Định tính

Lấy 2 g bột được liệu vào bình nón, thêm 20 ml *ethanol* 90 % (TT), đun cách thủy 30 phút, lọc nóng, bay hơi dịch lọc đến còn 3 ml, dùng dịch lọc này làm các phản ứng sau:

Cho 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm khoảng 0,05 g bột *magnesi* (TT) và 5 giọt *acid hydrochloric* (TT), lắc đều, để yên 5 phút đến 10 phút, xuất hiện màu hồng đỏ.

Cho 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT) xuất hiện tủa xanh đen.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Hái lấy được liệu, loại bỏ tạp chất, cắt ngắn, phơi khô trong bóng râm.

Bào chế

Khi dùng có thể sao qua hoặc tẩm rượu sao qua.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, bình. Vào hai kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Bổ can thận, mạnh gân xương, thông kinh lạc, an thai. Chủ trị: đau lưng, nhức xương-khớp, đau thần kinh ngoại biên, phụ nữ động thai, ít sữa sau khi đẻ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 20 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Dùng ngoài: Liều thích hợp.

TÁO (Hạt)***Semen Ziziphi mauritanae*****Táo nhân, Toan táo nhân**

Hạt già đã phơi hay sấy khô của cây táo ta hay còn gọi là cây Táo chua (*Ziziphus mauritiana* Lamk.), họ Táo ta (Rhamnaceae).

Mô tả

Hạt hình cầu hay hình trứng dẹt có một đầu hơi nhọn, một mặt gần như phẳng, một mặt khum hình thấu kính, dài 5 mm đến 8 mm, rộng 4 mm đến 6 mm, dày 1 mm đến 2 mm. Ở đầu nhọn có rốn hạt hơi lõm xuống, màu nâu thẫm. Mặt ngoài màu nâu đỏ hay nâu vàng, đôi khi có màu nâu thẫm. Chất mềm, dễ cắt ngang.

Vi phẫu

Vỏ hạt có hai lớp tế bào: Bên ngoài là lớp tế bào biểu bì xếp đều đặn, bên trong là lớp tế bào mô cứng hình chữ nhật, thành dày, xếp đứng theo hướng xuyên tâm.

Sát với tế bào mô cứng có vài hàng tế bào mô mềm thành mỏng bị bẹp, rải rác có một vài bó libe-gỗ. Nội nhũ gồm tế bào hình nhiều cạnh, thành mỏng xếp lộn xộn, trong tế bào có những giọt dầu và các chất dự trữ. Mặt trong gồm một lớp tế bào hình bầu dục dài. Trong cùng là hai lá mầm bằng nhau, xếp úp vào nhau.

Bột

Mảnh mô cứng của vỏ ngoài gồm tế bào khá to, màu vàng hay vàng nâu. Mạch mô mềm vỏ giữa là những tế bào thành mỏng, không đều. Mạch vỏ trong gồm tế bào màu vàng, hình nhiều cạnh, thành dày và lượn sóng. Mạch nội nhũ gồm các tế bào chứa những hạt tinh bột nhỏ và chất dự trữ. Mạch lá mầm gồm những tế bào có nhiều cạnh tương đối đều, thành mỏng, trong có những giọt dầu. Những giọt dầu rải rác.

Định tính

A. Lấy 2 g bột được liệu, thêm 20 ml *ethanol* (TT). Lắc đều, đun hồi lưu trên cách thủy trong 1 giờ, để nguội. Lọc, dịch lọc đem cô cách thủy đến khi còn lại 5 ml đến 6 ml, dùng dung dịch này làm các phản ứng sau:

Lấy 2 ống nghiệm, cho vào mỗi ống 1 ml dung dịch trên. Ống 1 thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT) và đun nhẹ. Sau đó cho vào mỗi ống 5 ml nước. Dung dịch trong ống 1 trong suốt hoặc ít đục hơn ống 2. Sau đó cho vào ống 1 hai giọt *dung dịch acid hydrochloric* 10 % (TT), lập tức có vẩn đục rồi kết tủa bông lắng xuống.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: n-Butanol đã bão hòa nước.

Dung dịch thử: Lấy khoảng 2 g bột được liệu, thêm 40 ml *ether* (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 1 giờ, lọc, rửa bã trên giấy lọc bằng 10 ml *ether* (TT). Gộp các dịch chiết *ether*, bốc hơi đến cạn. Hòa tan cặn trong 30 ml *n-butanol* (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 1 giờ, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến cạn. Hòa tan cặn trong 1 ml *methanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 2 g bột Táo nhân (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, sấy khô bản mỏng ở 80 °C rồi phun thuốc thử hiện màu là *dung dịch acid phosphomolybdic* 10 % trong *ethanol* (TT), sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 phút. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 8,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g được liệu đã nghiền nhỏ.

Tỷ lệ hạt đập vỡ

Không quá 10 % (Phụ lục 12.12).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Thu hoạch quả chín từ cuối mùa thu đến đầu mùa đông, loại bỏ thịt quả, lấy hạch cứng rửa sạch, phơi hoặc sấy khô, xay bỏ vỏ hạch cứng, sàng lấy hạt, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Toan táo nhân: Loại bỏ vỏ hạch cứng sót lại, khi dùng giã nát.

Toan táo nhân sao: Lấy toan táo nhân sạch, sao nhỏ lửa đến khi phồng lên và hơi thâm màu. Khi dùng giã nát.

Bảo quản

Nơi thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, toan, bình. Quy vào các kinh can, đờm, tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị

Dưỡng can, an thần, liễm hãn, sinh tân. Chủ trị: Tim đập hồi hộp, hư phiền, mất ngủ, ngủ mê, cơ thể hư nhược do ra nhiều mồ hôi, háo khát do tân dịch thương tổn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Người thực tà uất hỏa không dùng.

TẮC KÈ

Gekko

Toàn thân đã chế biến của con Tắc kè (*Gekko gekko* L.), họ Tắc kè (Gekkonidae).

Mô tả

Tắc kè có 4 chân. Toàn thân dẹt, do đã chế biến nên có hình dáng đặc biệt. Đầu dài từ 3 cm đến 5 cm, trên có 2 mắt, miệng có răng nhỏ và đều. Thân dài từ 8 cm đến 15 cm, rộng 7 cm đến 10 cm. Đuôi dài 10 cm đến 15 cm. Toàn thân có vảy nhỏ, mỏng, màu sắc tùy loại (màu tro xanh với điểm vàng, đỏ hay xám nâu). Hai chân trước và 2 chân sau được căng thẳng trên 2 que ngang. Từ đầu con Tắc kè đến cuối đuôi cũng được căng bởi một que dọc. Phần thân được căng vuông vắn và cân đối bởi 2 que chéo. Mùi hơi tanh, vị hơi mặn.

Tắc kè nguyên con, đủ đuôi, không vụn nát, chấp vảy, sâu mọt.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Chế biến

Có thể bắt tắc kè quanh năm, đập chết, moi bỏ phủ tạng, lau khô bằng vải hay giấy bản, dùng nẹp tre để căng giữ cho thân Tắc kè thẳng và phẳng ngay ngắn. Dùng dải giấy bản cuốn buộc chặt đuôi sát với nẹp tre để phòng mất đuôi, sau đó phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp (40 °C đến 50 °C).

Bào chế

Dùng tươi: Nhúng Tắc kè vào nước sôi, cạo sạch vảy, chặt bỏ đầu từ mắt trở nên, chặt bỏ các bàn chân, lột da. Mổ bỏ phủ tạng, lấy vải (hoặc giấy bản) lau sạch, nấu cháo.

Dùng khô: Chặt bỏ đầu từ mắt trở lên và các bàn chân, cạo sạch vảy, cắt thành miếng nhỏ.

Từ cấp giới: Lấy những miếng Tắc kè khô, tẩm rượu cho mềm, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô hoặc nướng vàng hay sao nhỏ lửa cho đến màu vàng thơm. Sau đó ngâm rượu hoặc tán thành bột làm hoàn tán.

Bảo quản

Đề trong thùng kín có Xuyên tiêu, nơi khô mát, tránh mốc mọt, không được xông sinh. Tránh làm gãy nát, không được gãy mất đuôi.

Tính vị, quy kinh

Hàm, bình, hơi độc. Quy vào kinh phế, thận.

Công năng, chủ trị

Bổ phế thận, định suyễn, trợ dương, ích tinh. Chủ trị: Khó thở hay suyễn do thận không nạp khí, ho và ho ra máu, liệt dương, di tinh.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng hoàn, tán, rượu thuốc hoặc có thể nấu cháo.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người ngoại tà thực nhiệt, ho do phong hàn.

TÂM VÔI

Bombyx Botryticatus

Bạch cương tâm, Cương tâm

Toàn thân phơi hoặc sấy khô của con Tâm nhà nuôi giai đoạn 4 đến 5 (*Bombyx mori* L.), họ Tâm tơ (Bombycidae) bị nhiễm vi nấm Bạch cương (*Botrytis bassiana* Bals.), họ Mucedinaceae, phân ngành Nấm bất toàn (Deuteromycotina).

Mô tả

Tâm vôi hơi có hình trụ, thường cong queo, nhẵn nhéo, dài 2 cm đến 5 cm, đường kính 0,5 cm đến 0,7 cm, mặt ngoài màu vàng tro, bao phủ bởi sợi nấm kí sinh và bào tử dạng phấn trắng. Toàn thân chia đốt rõ rệt. Đầu tương đối tròn, mắt ở 2 bên, hai bên lườn bụng có 8 đôi chân giả, đuôi hơi chẻ đôi. Chất cứng giòn, dễ bẻ gãy, mặt gãy bằng phẳng, sáng bóng, lớp ngoài trắng như bột, lớp giữa có 4 vòng tuyến tơ màu đen sáng hay nâu sáng. Mùi hơi tanh, vị hơi mặn.

Bột

Màu nâu xám hoặc nâu xám thẫm. Soi kính hiển vi thấy: Sợi nấm hầu như không màu, cong queo hoặc hình dấu ngoặc, với các sợi xoắn ốc màu nâu hoặc nâu thẫm. Mặt ngoài, mô biểu bì có vân nhăn nheo, hình lưới và những điểm nhỏ nhọn mọc cao lên từ những đường sọc, với những lỗ lông cứng tròn, mép của các lỗ này màu vàng. Lông cứng màu vàng hoặc màu nâu vàng, mặt ngoài trơn bóng, thành hơi dày. Trong mô lá dầu tằm chưa tiêu hóa hết, phần lớn chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ.

Độ ẩm

Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Vào mùa xuân và mùa thu, chọn những con tằm nguyên vẹn, chết cứng, trong và ngoài đều trắng do bị nhiễm vi nấm *Botrytis bassiana* Bals, rửa sạch, phơi nắng (có phủ vải xô), hoặc sấy nhẹ (40 °C đến 50 °C) đến khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Tằm vôi sao: Bỏ cám vào chảo, rang đều cho đến khi bốc khói. Cho Tằm vôi đã rửa sạch vào và đảo đều cho đến khi bề mặt của Tằm vôi chuyển thành màu vàng. Sàng loại bỏ cám, để nguội. Dùng 1 kg cám cho 10 kg Tằm vôi.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Hàm, tân, bình. Qui vào các kinh tâm, can, tỳ, phế.

Công năng, chủ trị

Trừ phong, định kinh giãn, tiêu đờm. Chủ trị: kinh giãn, họng sưng đau, đơn độc, mẩn ngứa da, loa lịch, liệt thần kinh mặt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 5 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc. Trẻ em dùng liều thích hợp theo chỉ dẫn của thầy thuốc.

TẦM GỬI***Herba Loranthi***

Những đoạn thân, cành và lá đã phơi khô của loài Tầm gửi (*Loranthus chinensis* DC.) hoặc *Loranthus cochinchinensis* Lour.), họ Tầm gửi (Loranthaceae) sống kí sinh trên cây gạo, buri, mít.

Mô tả

Những đoạn thân, cành hình trụ dài 3 cm đến 4,5 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,5 cm có khi phân nhánh. Mặt ngoài màu nâu xám có nhiều lỗ bi nhỏ, chất cứng chắc. Lá khô nhăn nhúm, nguyên hoặc đã cắt thành từng mảnh. Lá nguyên hình trứng, hơi dày, dài 6 cm đến 8 cm, rộng 2,5 cm đến 4,5 cm, cuống lá 0,5 cm đến 1 cm, đỉnh lá nhọn, gân lá hình lông chim không rõ.

Vi phẫu

Vi phẫu 2 loài tương tự nhau.

Gân lá: Phía trên hơi lồi, phía dưới lõm nhiều. Biểu bì trên và dưới là một hàng tế bào hình chữ nhật nhỏ, xếp đều đặn, phía ngoài phủ lớp cutin mỏng. Sát biểu bì là lớp mô dày. Mô mềm là những tế bào thành mỏng hình đa giác hay hình trứng. Trong mô mềm có các đám mô cứng tạo thành cung rải rác bao quanh các bó libe-gỗ. Có 3 bó libe-gỗ lớn ở 3 gân chính, cung libe phía trên và phía dưới bao quanh bó gỗ. Gỗ cấu tạo bởi các mạch gỗ xếp thành hàng xen kẽ trong nhu mô tạo thành các bó riêng biệt.

Phiến lá: Biểu bì trên và dưới là một hàng tế bào hình chữ nhật tương tự gân lá. Mô giậu không rõ. Trong mô mềm có thể cứng và rải rác có tinh thể calci oxalat hình khối.

Thân: Mặt cắt ngang có thiết diện tròn. Bần gồm nhiều hàng tế bào xếp thành vòng đồng tâm và dây xuyên tâm, mặt ngoài phủ một lớp cutin mỏng. Mô mềm vỏ là những tế bào hình trứng hay đa giác thành mỏng. Trong mô mềm rải rác có các đám mô cứng. Libe gồm các bó nhỏ, ngoài mỗi bó có bó sợi, tầng phát sinh libe-gỗ không rõ. Phần libe-gỗ rất phát triển, libe phía ngoài, phần gỗ phía trong xếp thành các dải. Trong cùng là mô mềm ruột cấu tạo bởi các tế bào hình tròn hay đa giác có kích thước lớn, thành mỏng, rải rác có chứa các đám tinh thể calci oxalat hình khối.

Bột

Cả hai loài đều có đặc điểm tương tự.

Bột màu vàng lục, không mùi, không vị. Soi dưới kính hiển vi quan sát thấy: Mảnh biểu bì mang lỗ khí, mảnh mô mềm lá có các tế bào hình đa giác thành mỏng. Sợi đứng riêng lẻ hay tụ thành bó. Tế bào mô cứng có nhiều hình dạng khác nhau, thành dày, khoang hẹp. Mảnh mạch mạng, mạch xoắn. Tinh thể calci oxalat hình khối.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 50 ml ethanol 90 % (TT), đun cách thủy 10 phút, lọc nóng, dùng dịch lọc làm các phản ứng sau:

Cho 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm một ít bột *magnesi* (TT) và 5 giọt *acid hydrochloric* (TT), lắc đều rồi đặt vào nồi cách thủy nóng, xuất hiện màu đỏ.

Cho 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu xanh đen.

Nhỏ 1 giọt dịch lọc lên tờ giấy lọc, sấy khô rồi hơ lên miệng lọ amoniac đặc đã mở nút sẽ thấy màu vàng của vết đậm lên.

Cho 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm 3 giọt đến 5 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, xuất hiện tủa và màu vàng của dung dịch tăng lên rõ rệt.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Toluene - ethyl acetat - acid formic - nước (6 : 5 : 1,5 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu chiết bằng methanol (TT) trong Soxhlet 2 giờ. Cát thu hồi dung môi đến cạn, hòa tan cân bằng nước sôi 3 lần, mỗi lần 8 ml đến 10 ml lọc vào bình gạn. Lắc dịch lọc đã nguội với n-hexan (TT) để loại tạp, sau đó lắc với ethyl acetat (TT) 3 lần, mỗi lần 8 ml, gộp dịch chiết ethyl acetat cô tới khô, hòa tan cân trong 1 ml methanol (TT) để chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g Tầm gửi (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun dung dịch nhôm clorid 3 % trong ethanol (TT). Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hái dược liệu, loại bỏ tạp chất, cắt đoạn 3 cm đến 5 cm, phơi khô trong bóng râm. Khi dùng có thể tẩm rượu sao qua.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, bình. Vào kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Khu phong trừ thấp, bổ can thận, mạnh gân xương, an thai, lợi sữa. Chủ trị: Đau lưng, tê đau gân cốt, viêm thận mạn tính, động thai, phụ nữ sau khi đẻ ít sữa.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 20 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

TÀN GIAO (RỄ)

Radix Gentianae

Rễ đã được phơi hay sấy khô của một số loài Tàn giao: Tàn giao (*Gentiana macrophylla* Pall., *Gentiana straminea* Maxim., *Gentiana dahurica* Fisch.), họ Long đóm (*Gentianaceae*).

Mô tả

Gentiana macrophylla Pall.: Rễ hình trụ, trên to, dưới nhỏ, xoắn vặn, dài 10 cm đến 30 cm, đường kính 1 cm đến 3 cm. Mặt ngoài màu vàng nâu hoặc màu vàng, có nếp nhăn theo chiều dọc hoặc vặn. Đầu rễ còn sót lại mấu gốc thân. Chất cứng, giòn, dễ bị bẻ gãy. Mặt gãy mềm: Phần vỏ có màu vàng hoặc vàng nâu, phần gỗ màu vàng. Mùi đặc biệt, vị đắng, hơi chát.

Gentiana straminea Maxim: Rễ hơi hình nón, thường do mấy rễ nhỏ tụ lại, đường kính tới 7 mm. Mặt ngoài màu nâu, thô, có vết nứt với lỗ vân dạng mạng lưới. Chất giòn, dễ bẻ gãy, mặt bẻ gãy thô.

Gentiana dahurica Fisch.: Rễ hơi hình nón hoặc trụ, dài 8 cm đến 15 cm, đường kính 0,2 cm đến 1 cm. Mặt ngoài có màu vàng nâu. Rễ chính thường là một rễ, đầu rễ còn sót lại gốc thân. Phần dưới của rễ thường phân nhánh. Mặt gãy có màu trắng vàng.

Định tính

A. Lấy 2 g bột dược liệu thô, thêm 30 ml hỗn hợp cloroform - methanol - amoniac (75 : 25 : 5), ngâm 2 giờ, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy còn khoảng 1 ml, thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và tiếp tục bốc hơi cloroform, để nguội, lọc. Cho dịch lọc vào 2 ống nghiệm:

Ống 1, thêm vài giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa màu trắng vàng nhạt.

Ống 2, thêm vài giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa màu đỏ nâu.

B. Mặt cắt ngang của dược liệu quan sát dưới ánh sáng tử ngoại (365 nm) có huỳnh quang màu trắng vàng hoặc vàng kim.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 24,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân hoặc mùa thu, đào lấy rễ, rửa sạch.

Gentiana macrophylla, *Gentiana straminea*: Phơi mềm dược liệu, xếp đóng cho ra mồ hôi và đến khi mặt ngoài có màu vàng đỏ hoặc vàng xám, lấy ra dần

mỏng phơi khô, hoặc không để đồ mồ hôi mà phơi khô ngay.

Gentiana dahurica: Gọt bỏ vỏ đen lúc còn tươi, phơi khô.

Bào chế

Lấy dược liệu, bỏ tạp chất, rửa sạch ủ mềm, thái lát dày, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, qui kinh

Khô, bình. Vào các kinh vị, đại tràng, can, đờm.

Công năng, chủ trị

Trừ phong thấp, thanh thấp nhiệt, ngừng tê đau. Chủ trị: Phong thấp đau khớp, gân mạch co rút, khớp đau bứt rứt, chân tay co quắp, sốt vào buổi chiều. Trẻ em cam tích phát sốt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

TẮT BÁT (Quả)

Fructus Piperis longi

Tiêu thất, Tiêu lốt, Tiêu lá tim, Tiêu dài

Cụm quả chín hoặc gần chín, phơi khô của cây Tắt bát (*Piper longum* L.), họ Hồ tiêu (Piperaceae).

Mô tả

Cụm quả hình trụ, hơi cong, do nhiều quả mọng nhỏ tập hợp thành, dài 1,5 cm đến 3,5 cm, đường kính 0,3 cm đến 0,5 cm, mặt ngoài màu nâu đen hoặc nâu, có nhiều quả nhô lên, sắp xếp đều đặn và xiên chéo. Gốc cụm quả có cuống còn sót lại hoặc vết cuống đã rụng. Chất cứng, giòn, dễ gãy. Quả mọng nhỏ, hình cầu, đường kính 1 mm. Mùi thơm, vị cay.

Bột

Bột màu nâu xám. Soi dưới kính hiển vi thấy: Tế bào đá hình gần tròn, hình trứng dài hoặc hình đa giác, đường kính 25 µm đến 61 µm, có khi tới 170 µm, thành tương đối dày, đôi khi có đường sọc kẻ rõ. Túi tiết hình gần tròn, đường kính 25 µm đến 66 µm. Tế bào vỏ hạt màu nâu đỏ, hình đa giác dài, thành có dạng chuỗi hạt. Hạt tinh bột nhỏ, thường tụ tập thành khối.

Định tính

A. Lấy một lượng nhỏ bột dược liệu, cho vào ống nghiệm, thêm 1 giọt *acid sulfuric* (TT), sẽ hiện ra màu đỏ tươi, dần dần biến thành màu nâu đỏ, sau cùng chuyển thành màu nâu.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G60F₂₅₄

Dung môi khai triển: Benzen - ethyl acetat - acetone (7 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml ethanol 96 % (TT), lắc siêu âm trong 30 phút, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1 g bột Tắt bát (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT). Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi xuất hiện vết. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 3 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi. Sấy căn thu được ở 100 °C trong 1 h.

Chế biến

Thu hoạch khi cụm quả chuyển từ màu xanh lục sang màu đen, loại bỏ tạp chất, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc.

Tính vị, qui kinh

Tân, nhiệt. Vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Ôn trung khử hàn, hạ khí, chỉ thống. Chủ trị: Đau thượng vị, nôn mửa, tiêu chảy do hàn, thiên đầu thống. Dùng ngoài chữa đau răng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 1,5 g đến 3 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Dùng ngoài: Lượng thích hợp, tán bột, cho vào lỗ răng sâu.

Kiểm kê

Nếu phế tỳ có thực nhiệt uất hỏa và tràng vị táo nhiệt gây đau thì cấm dùng.

TẾ TÂN***Herba Asari***

Toàn cây đã phơi khô của cây Bắc tế tân [*Asarum heterotropoides* Fr. var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag.], cây Hán thành tế tân (*Asarum sieboldii* Miq. var. *seoulense* Nakai), hoặc Hoa tế tân (*Asarum sieboldii* Miq.) cùng họ Mộc hương (*Aristolochiaceae*). Hai loài trên còn gọi là Liêu tế tân.

Mô tả

Bắc tế tân: Thường cuộn lại thành một khối lỏng lẻo. Thân rễ mọc ngang hình trụ, không đều, phân nhánh ngắn, dài 1 cm đến 10 cm, đường kính 2 mm đến 4 mm, mặt ngoài màu nâu xám, xù xì, với những mấu vòng, đốt dài 2 mm đến 3 mm, có vết hình đĩa của các sẹo thân ở đầu nhánh. Rễ mảnh dẻ, mọc gần nhau ở các mấu, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 1 mm; mặt ngoài màu vàng xám, nhẵn, có vết nhăn dọc, với những rễ con nhỏ hoặc vết sẹo. Có 2 đến 3 lá mọc ở gốc thân khí sinh, cuống dài, mặt nhẵn, phiến lá phần nhiều bị gãy, lá nguyên hình tim hay hình thận, mép nguyên, đầu lá nhọn, gốc lá hình tim, dài 4 cm đến 10 cm, mặt trên màu lục nhạt. Một số dược liệu có hoa, phần nhiều nhăn dóm lại, hình chuông, màu tím thẫm, thùy của bao hoa cong về phía gốc, phần nhiều bị nén ép, sát vào ống bao hoa. Quả nang, hình cầu. Mùi thơm, vị cay, nếm có cảm giác tê lưỡi.

Hán thành tế tân: Thân rễ của cây trồng, có nhiều nhánh, dài 5 cm đến 15 cm, đường kính 2 mm đến 6 mm. Rễ dài 15 cm đến 40 cm, đường kính 1 mm đến 2 mm, có nhiều lá hơn.

Hàn thành tế tân: Đường kính thân rễ 1 mm đến 5 mm, đốt dài 0,1 cm đến 1 cm. Phần nhiều có 2 lá gốc, cuống có lông, phiến lá dày hơn. Thùy bao hoa căng ra. Quả nang, hình bán cầu.

Hoa tế tân: Thân rễ dài 5 cm đến 20 cm, đường kính 1 mm, đốt dài 0,2 cm đến 1 cm. Có 1 đến 2 lá gốc, phiến lá mỏng hơn, hình tim, đầu lá nhọn. Thùy bao hoa căng ra. Quả nang, gần hình cầu. Mùi và vị đặc trưng.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu không được dưới 2,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ và đầu mùa thu, khi quả chín, đào lấy cả cây Tế tân, rửa sạch, phơi âm can.

Bào chế

Dược liệu khô, loại bỏ tạp chất, vẩy nước vào cho mềm, cắt thành từng đoạn, phơi khô.

Bảo quản

Đề nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào các kinh tâm, phế, thận, can.

Công năng, chủ trị

Khu phong, tán hàn, thông khiếu, giảm đau, ôn phế, hóa đàm ẩm. Chủ trị: Cảm mạo phong hàn, nhức đầu, đau răng, ngạt mũi, chảy nước mũi, phong thấp đau tê, đàm ẩm, ho suyễn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 8 g, dạng thuốc sắc, bột, hay viên. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Dùng ngoài: Lượng thích hợp.

Kiểm kê

Không dùng phối hợp với Lê lô.

Dùng thận trọng với người âm hư hỏa vượng.

THẠCH CAO***Gypsum fibrosum*****Đại thạch cao, băng thạch**

Chất khoáng thiên nhiên có thành phần chủ yếu là calci sulfat ngậm 2 phân tử nước ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

Mô tả

Thạch cao là một khối tập hợp của các sợi theo chiều dài, hình phiến hoặc các miếng không đều, màu trắng, trắng xám hoặc vàng nhạt, đôi khi trong suốt. Thê nặng, chất xốp, mặt cắt dọc có sợi óng ánh. Thạch cao màu trắng, bóng, mảnh to, xốp, mặt ngoài như sợi tơ, không lẫn tạp chất là tốt. Không mùi, vị nhạt.

Định tính

A. Lấy một miếng thạch cao (chế phẩm) cho vào một ống nghiệm có nút bần đã đục lỗ, đốt lên, hơi ẩm sẽ đọng lại ở thành ống nghiệm, miếng thạch cao trở nên trắng đục.

B. Lấy khoảng 0,2 g bột chế phẩm, thêm 10 ml dung dịch acid hydrochloric loãng (TT), đun nóng để hòa tan, được dung dịch A, tiến hành thử phản ứng calci và sulfat như sau:

Sulfat:

Thêm 1 ml dung dịch bari clorid 5 % (TT) vào 3 ml dung dịch A, có tủa trắng, tủa không tan trong acid hydrochloric (TT) và acid nitric (TT).

Thêm 1 giọt đến 2 giọt dung dịch chì acetat 20 % (TT) vào 3 ml dung dịch A, có tủa màu trắng, tủa này tan trong dung dịch amoni acetat 10 % hoặc dung dịch natri hydroxyd 4,3 %.

Calci:

Làm ẩm chế phẩm với *acid hydrochloric* (TT), lấy que dây Bạch kim (Pt) chấm vào, hơi lên ngọn lửa không màu, sẽ thấy màu đỏ vàng nhạt.

Thêm 2 giọt *dung dịch đỏ methyl* (TT) vào 3 ml *dung dịch A*, trung hòa bằng *amoniac đặc* (TT), sau đó acid hóa bằng *acid hydrochloric loãng* (TT), thêm vài giọt *dung dịch amoni oxalat 3,5 %* (TT), sẽ có tủa trắng tan trong *acid hydrochloric* (TT) nhưng không tan trong *acid acetic* (TT).

Kim loại nặng

Không quá 10 phần triệu.

Dung dịch thử: Lấy 4 g bột chế phẩm thêm 4 ml *acid acetic băng* (TT) và 96 ml *nước*, đun sôi 10 phút, để nguội, thêm *nước* cho vừa đúng thể tích ban đầu, lọc. Lấy 25 ml dịch lọc cho vào ống Nessler A.

Dung dịch đối chiếu: Cho vào ống Nessler B gồm 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu*, 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5*, thêm *nước* vừa đủ 25 ml.

Thêm vào mỗi ống Nesler trên 2 ml *dung dịch thioacetamid* (TT), để yên 2 phút. So sánh màu của *dung dịch thử* và *dung dịch đối chiếu* bằng cách quan sát từ trên xuống dọc theo trục của ống nghiệm trên nền trắng. Màu của *dung dịch thử* không được đậm hơn màu của *dung dịch đối chiếu*.

Arsen

Không được quá 2 phần triệu.

Lấy 1 g chế phẩm, thêm 15 ml *acid hydrochloric* (TT) và *nước* đến 40 ml, đun nóng để hòa tan. Tiến hành thử giới hạn arsen (Phụ lục 9.4.2). Dùng 2 ml *dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu* làm *dung dịch* so sánh.

Định lượng

Cân chính xác 0,2 g bột chế phẩm mịn, cho vào một bình nón, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT), đun nóng để hòa tan, thêm 100 ml *nước* và 1 giọt *dung dịch đỏ methyl* (TT), thêm nhỏ giọt *dung dịch kali hydroxyd 10 %* (TT) đến khi *dung dịch* chuyển sang màu vàng nhạt, sau đó thêm tiếp 5 ml. Thêm một lượng nhỏ *hỗn hợp chỉ thị màu calcein* (Nghiên cứu 0,1 g *calcein* và 10 g *kali clorid*), chuẩn độ bằng *dung dịch dinatri edetat 0,05 M* (CD) đến khi huỳnh quang lục vàng nhạt mất đi và chuyển sang màu da cam. 1 ml *dung dịch dinatri edetat 0,05 M* (CD) tương đương với 8,608 mg $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Thạch cao phải có hàm lượng calci sulfat dihydrat ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) không được dưới 95,0 %.

Chế biến

Lấy thạch cao, rửa sạch, phơi khô, đập ra thành miếng nhỏ, loại bỏ các đá tạp, sau nghiền thành bột thô gọi là sinh thạch cao.

Bào chế

Đoạn thạch cao: Lấy sinh thạch cao sạch, đập thành khối nhỏ, bỏ vào lò lửa không khói, nung đến khi hơi bốc, lấy ra, để nguội, đập vụn.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Sinh thạch cao: Cam, tân, đại hàn. Vào các kinh phế, vị, tam tiêu, tâm bào.

Đoạn thạch cao: Cam, tân, sáp, hàn.

Công năng, chủ trị

Sinh thạch cao: Thanh nhiệt tả hỏa, trừ phiền chỉ khát. Chủ trị: Thực nhiệt ở phần khí của phế vị (sốt cao, mồ hôi nhiều khát nhiều, mạch hồng đại), nhiệt độc thịnh ở kinh mạch (sốt cao phát ban), giai đoạn sau của bệnh ôn (còn sốt nhẹ, tâm phiền, miệng khô, hơi đỏ), viêm lợi.

Đoạn thạch cao: Thu thấp, sinh cơ, liễm sang, chỉ huyết. Chủ trị: Dùng ngoài điều trị vết loét không thu miệng, ngứa do thấp chân, bỏng nước, bỏng lửa, ngoại thương chảy máu.

Cách dùng, liều lượng

Sinh thạch cao: Ngày dùng từ 10 g đến 36 g, dạng thuốc sắc (sắc trước các loại thuốc khác).

Đoạn thạch cao: Tán bột đắp nơi đau, lượng thích hợp.

Kiểm kê

Chứng hư hàn không dùng.

THẠCH HỘC (Thân)***Herba Dendrobii***

Thân tươi hay khô của cây Thạch hộc: Hoàn thảo thạch hộc, Thạch hộc hoa gừng (*Dendrobium loddigesii* Rolfe), Mã tiên thạch hộc (*Dendrobium fimbriatum* Hook. f.), Hoàng thảo thạch hộc (*Dendrobium chrysanthum* Wall. ex Lindl.), Thiết bì thạch hộc (*Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl.) hoặc Kim thoa thạch hộc (*Dendrobium nobile* Lindl.), họ Lan (Orchidaceae).

Mô tả

Hoàn thảo thạch hộc: Hình trụ, mảnh khảnh, thường uốn cong hoặc cuộn thành một khối, dài 15 cm đến 35 cm, đường kính 0,1 cm đến 0,3 cm, đốt dài 1 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu vàng kim sáng bóng, có vân dọc nhỏ. Chất mềm, dai, chắc. Mặt bẻ gãy tương đối bằng phẳng. Không có mùi, vị nhạt.

Mã tiên thạch hộc: Thanh trụ dài, dài 40 cm đến 120 cm, đường kính 0,5 cm đến 0,8 cm, đốt dài 3 cm đến 4,5 cm. Mặt ngoài màu vàng đến vàng tối. Có rãnh dọc sâu. Chất xốp, mặt bẻ gãy có xơ dạng sợi. Vị hơi đắng.

Hoàng thảo thạch hộc: Dài 30 cm đến 80 cm, đường kính 0,3 cm đến 0,5 cm, đốt dài 2 cm đến 3,5 cm. Mặt ngoài màu vàng kim đến màu nâu vàng nhạt. Có rãnh dọc. Nhẹ và chắc, dễ bẻ gãy, mặt bẻ gãy hơi có xơ. Nhai có cảm giác dính.

Nhĩ hoàn thạch học (Thiết bì thạch học sau khi cắt bỏ rễ phơi hoặc sấy khô): Hình xoáy ốc hoặc hình lò so, thường có 2 đến 4 vòng xoáy. Sau khi kéo thẳng ra dài 3,5 cm đến 8 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,3 cm. Mặt ngoài màu lục vàng có vân nhăn dọc nhỏ. Chất rắn chắc, dễ bẻ gãy, mặt bẻ gãy phẳng. Nhai có cảm giác dính.

Kim thoa thạch học: Hình trụ tròn dẹt, dài 20 cm đến 40 cm, đường kính 0,4 cm đến 0,6 cm, có rãnh dọc sâu. Chất cứng, giòn. Mặt bẻ tương đối phẳng. Vị đắng.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Tỷ lệ dược liệu có màu nâu, xám: Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Quanh năm đều có thể thu hái.

Nếu dùng tươi, sau khi thu hái, loại bỏ tạp chất.

Nếu dùng khô, sau khi thu hái, loại bỏ tạp chất, luộc qua hoặc sấy mềm, vừa đảo vừa sấy cho đến khi bao lá khô. Lấy Thiết bì thạch học cắt bỏ rễ con, vừa sao vừa vụn cho đến khi có hình xoáy ốc hoặc lò so, sấy khô quen gọi là Nhĩ hoàn thạch học (thạch học vòng tai).

Bào chế

Lấy dược liệu khô, loại bỏ tạp chất còn sót lại, rửa sạch, cắt đoạn, phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Dược liệu khô: Để nơi khô.

Dược liệu tươi: Để nơi mát, ẩm.

Tính vị, quy kinh

Cam, vị hàn. Vào các kinh vị, thận, phế.

Công năng, chủ trị

Tư âm thanh nhiệt, ích vị sinh tân. Chủ trị: âm hư nội nhiệt, tân dịch hao tổn (nóng sốt nhẹ, bứt rứt, háo khát). Vị âm hư, vị nhiệt (ăn kém, nôn khan, môi miệng khô, lở loét miệng). Tiêu khát.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g dược liệu khô, từ 15 g đến 30 g dược liệu tươi, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

THANH CAO HOA VÀNG (Lá)

Folium Artemisiae annuae

Thanh hao hoa vàng

Lá đã phơi hay sấy khô của cây Thanh cao hoa vàng (*Artemisia annua* L.), họ Cúc (*Asteraceae*).

Mô tả

Lá màu vàng nâu hoặc nâu sẫm, giòn, dễ vụn nát, mùi thơm hắc đặc biệt, vị đắng. Có thể lẫn một ít cành non hoặc ngọn non.

Vi phẫu

Phần gân giữa: Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào xếp đều đặn có tầng cutin mỏng, mang lông che chở và lông tiết. Đám mô dày xếp sát biểu bì trên và dưới. Mô mềm vỏ tế bào thành mỏng nhăn nheo. Một số bó libe-gỗ to nằm giữa gân lá gồm: Cung mô cứng úp vào nhau, tế bào mô cứng thành dày hình nhiều cạnh; cung libe nằm sát cung mô cứng dưới; bó gỗ hình thoi gồm những mạch gỗ xếp thành dãy nằm giữa cung libe và cung mô cứng trên.

Phần phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một lớp tế bào xếp đều đặn, mang lông che chở và lông tiết. Biểu bì dưới mang lỗ khí. Mô giậu ở cả hai mặt của phiến lá. Trong phần mô khuyết từng quãng có bó libe-gỗ nhỏ.

Bột

Mảnh biểu bì gồm tế bào thành mỏng mang lỗ khí. Lông che chở hình chữ T, đầu lông đơn bào hình thoi, chân đa bào gồm 2 đến 3 tế bào. Một loại lông che chở khác đa bào một dãy, đầu thuôn nhỏ. Lông tiết đầu hai tế bào, chân 1 đến 2 dãy tế bào. Mảnh mô mềm. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Hệ dung môi: *Toluen - ethyl acetat* (95 : 5).

Dung dịch thử: Lấy 1 g dược liệu cho vào bình dung tích 100 ml, thêm 30 ml *ether dầu hóa* (30 °C đến 60 °C) (TT), đun sôi hồi lưu trên cách thủy 5 phút đến 10 phút. Để nguội, lọc lấy dịch chiết, cô trên cách thủy đến khô. Hòa cân trong 1 ml *cloroform* (TT), thêm 9 ml *ethanol* (TT), lắc đều, lọc, được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch artemisinin chuẩn 0,1 % trong *ethanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun thuốc thử {gồm 0,025 g 4-dimethylaminobenzaldehyd (TT) trong 5,0 ml acid acetic (TT) và 5,0 ml acid phosphoric 10 % (TT)}. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có một vết màu xanh tím cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ cành non và ngọn non : Không quá 10,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 2,0 %.

Định lượng

Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1), kết hợp phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Hệ dung môi: n-Hexan - ethyl acetat (70 : 30).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g dược liệu, chiết với *ether dầu hỏa* (30 °C đến 60 °C) (TT) trong bình Soxhlet dung tích 50 ml trên cách thủy trong 6 giờ, cất thu hồi dung môi lấy cặn. Hòa tan cặn trong 1 ml *cloroform* (TT) và cho vào bình định mức 10 ml, tráng cốc đựng cặn bằng *ethanol* (TT) rồi thêm cùng dung môi đến vạch. Lọc qua giấy lọc, bỏ 0,5 ml đến 1 ml dịch lọc đầu, lấy khoảng 2 ml dịch lọc tiếp theo.

Dung dịch đối chiếu: Cân chính xác 0,010 g artemisinin chuẩn, hòa tan trong 10 ml *ethanol* (TT) (pha dùng trong ngày).

Bản mỏng silica gel G (20 cm x 20 cm) đã được hoạt hóa ở 110 °C trong 2 giờ, được chia vạch thành 5 băng, chấm lần lượt mỗi băng 0,1 ml các dung dịch thử (băng 1 và 2) và dung dịch đối chiếu (băng 3 và 4), chấm thành vạch dài 2 cm, rộng 0,3 cm; băng 5: chấm 0,1 ml *ethanol* (TT) làm mẫu trắng.

Tiến hành sắc ký, sau khi triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 18 cm, lấy bản mỏng ra, để khô dung môi ngoài không khí trong 1 giờ. Phun nước cất làm ướt bản mỏng để xác định các vùng có artemisinin, các vết artemisinin chuẩn sẽ xuất hiện màu trắng đục trên sắc ký đồ. Vạch đường ngang ở phía trên và phía dưới vết artemisinin đã được xác định sao cho cách đều hai mép của vết 0,5 cm đến 0,7 cm. Cạo riêng biệt các vùng có artemisinin của vết 1, 2, 3 và 4. Cạo vùng không chứa artemisinin của vết 5 làm mẫu trắng. Cho vào mỗi mẫu bột silica gel cạo được nói trên 1 ml *ethanol* (TT), lắc kỹ. Thêm 9 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,05 N* (TT), lắc kỹ, cho vào tủ ấm 50 °C trong 30 phút. Lấy ra để nguội 15 phút, lọc lấy dịch lọc trong và đo độ hấp thụ của các dung dịch so với dung dịch mẫu trắng ở bước sóng 292 nm (Phụ lục 4.1). Kết quả đo của mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu là giá trị trung bình của 2 lần đo nhắc lại.

Từ độ hấp thụ của dung dịch chuẩn và dung dịch đối chiếu, nồng độ của dung dịch artemisinin chuẩn, tính hàm lượng artemisinin trong dược liệu.

Hàm lượng artemisinin phải không được ít hơn 0,7 % tính theo dược liệu khô.

Chế biến

Thu hái vào lúc cây sắp ra hoa, tốt nhất là vào mùa hè, khi cây có nhiều lá, cắt phần trên mặt đất, phơi khô, lặt hoặc đập cho lá rụng, loại bỏ thân cành, lấy lá phơi đến khô hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, tránh mốc, mọt.

Công dụng

Dùng chiết xuất artemisinin.

THANH HAO***Herba Artemisiae apiaceae***

Phần trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Thanh hao (*Artemisia apiacea* Hance), họ Cúc (*Asteraceae*).

Mô tả

Cành hình trụ, nhẵn, có rãnh dọc nông, màu vàng nâu, đường kính 0,2 cm đến 0,6 cm, dài 40 cm đến 60 cm, mang nhiều hoa và lá. Phần trên thân phân nhánh nhiều. Chết nhẹ, dễ bẻ gãy, ruột trắng. Phiến lá và hoa hay bị rụng. Lá hoàn chỉnh có hình bầu dục dài, xẻ sâu dạng lông chim hai lần, phiến xẻ nhỏ hình bầu dục dài, hoặc dạng răng cưa, hình tam giác nhọn đầu. Cụm hoa đầu hình bán cầu, đường kính 0,3 cm đến 0,4 cm, gồm nhiều hoa nhỏ màu vàng nhạt. Mùi thơm đặc biệt, vị hơi đắng.

Vi phẫu

Thân: Biểu bì. Lớp mô mềm vỏ tương đối hẹp. Nội bì có tế bào kéo dài theo hướng tiếp tuyến, thành hơi dày. Sợi mô cứng từng đám xếp thành một vòng. Phần gỗ ứng với đám mô cứng phát triển rộng hơn, phía trong mạch gỗ nhiều và to hơn. Mô mềm ruột.

Bột

Mảnh lá bắc tế bào gần như hình chữ nhật. Mạch lá dài gồm các tế bào dài. Sợi dài, thành khá dày, đứng riêng hoặc tụ thành đám. Mạch mạch điểm, mạch vạch.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g dược liệu đã tán nhỏ để thử.

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Các bộ phận khác của cây: Không quá 2,0 %.

Phần cụm hoa và lá: Không ít hơn 35,0 %.

Tỷ lệ vụn nát

Hoa, lá rụng: Không quá 10 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến

Thu hái khi cây đang ra hoa. Chặt cả cây, bỏ rễ, loại bỏ tạp chất, chặt nhỏ, phơi khô (dùng sống) hoặc sao qua (dùng chín). Cây có nhiều lá, hoa, khô chắc, có mùi thơm là tốt. Để tăng tính âm còn tẩm với miết huyết.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh vụn nát và rụng lá, hoa.

Tính vị, quy kinh

Khô, vị tân, hàn. Vào các kinh can, đờm.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải thử, lương huyết thoái hư nhiệt. Chủ trị: Bệnh lao nhiệt, một số chứng sốt do phế lao, sốt rét, chứng hàn nhiệt vãng lai, ra mồ hôi trộm. Trúng thử.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ

Người khí hư, ỉa lỏng không nên dùng.

THĂNG MA (Thân rễ)

Rhizoma Cimicifugae

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Đại tam điệp Thăng ma (*Cimicifuga heracleifolia* Kom.), Hưng an Thăng ma [*Cimicifuga dahurica* (Turcz) Maxim.], hoặc Thăng ma (*Cimicifuga foetida* L.), họ Hoàng liên (Ranunculaceae).

Mô tả

Thân rễ là những khối dài không đều, thường phân nhánh nhiều, có nhiều mắt nhỏ, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 2 cm đến 4 cm. Mặt ngoài màu nâu đen hoặc nâu, thô nháp, còn sót lại nhiều rễ nhỏ, cứng, dai. Phần trên thân rễ có một số vết sẹo của thân, dạng lỗ tròn, mặt trong của lỗ có vân dạng mạng lưới. Phần dưới thân rễ lồi lõm không phẳng, có sẹo của các rễ nhỏ. Chất nhẹ, cứng, khó bẻ. Mặt bẻ gãy không phẳng, có xơ, màu vàng lục hoặc vàng nhạt. Mùi nhẹ, vị hơi đắng và chát.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - ethyl acetat* (7 : 3).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ethanol* 95 % (TT), đun sôi hồi lưu trong 1 giờ, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cần trong 1 ml *ethanol* 95 % (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan acid ferulic và acid isoferulic chuẩn trong *ethanol* 95 % (TT) để được hai dung dịch chuẩn tương ứng có nồng độ 1 mg/ml. Nếu không có các chất chuẩn ở trên thì dùng 1 g bột Thăng ma (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu, cùng giá trị R_f với các vết của acid ferulic và acid isoferulic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu, cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 17,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 50 % (TT) làm dung môi.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp *acetonitril* (TT)- *dung dịch acid phosphoric* 0,1 % (TT) (13 : 87).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg acid isoferulic chuẩn vào bình định mức 50 ml màu nâu, thêm *ethanol* 10 % (TT) để hòa tan và pha loãng vừa đủ thể tích, trộn đều. Lấy chính xác 1 ml dung dịch này cho vào bình định mức 10 ml màu nâu và pha loãng bằng *ethanol* 10 % (TT) để được dung dịch chuẩn có nồng độ 20 µg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 710) vào bình nón nút mài, thêm chính xác 25 ml *ethanol* 10 % (TT), cân. Đun hồi lưu trong 2,5 giờ, để nguội, cân lại. Bỏ sung khối lượng bị mất bằng *ethanol* 10 % (TT), trộn đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm được dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tinh C dùng cho sắc ký (5 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 316 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml đến 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành

Tiêm dung dịch chuẩn. Tính số đĩa lý thuyết không được dưới 5000 (tính theo pic của acid isoferulic).

Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn vào máy sắc ký. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và dựa vào hàm lượng $C_{10}H_{10}O_4$ chuẩn, tính hàm lượng acid isoferulic trong dược liệu

Hàm lượng acid isoferulic ($C_{10}H_{10}O_4$) không được dưới 0,1%, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, đào thân rễ về, rửa sạch, cắt bỏ thân mầm, phơi đến khi rễ con khô. Dùng lửa đốt hoặc cắt bỏ rễ con rồi phơi đến khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ngâm qua, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng.

Tính vị, quy kinh

Tân, vị cam, vị hàn. Vào các kinh phế, tỳ, vị, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Thấu chẩn, tán phong, giải độc, thăng dương khí. Chủ trị: Phong nhiệt ở dương minh có nhức đầu, đau răng, họng sưng đau; sỏi không mọc, dương độc phát ban; sa trực tràng, sa dạ con.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

THẢO QUẢ (Quả)***Fructus Amomi aromatici***

Quả chín đã phơi khô của cây Thảo quả (*Amomum aromaticum* Roxb.), họ Gừng (*Zingiberaceae*).

Mô tả

Quả hình bầu dục dài, đôi khi có 3 góc tù, dài 2 cm đến 4,5 cm, đường kính 1,5 cm đến 2,5 cm. Mặt ngoài màu nâu đến nâu hơi đỏ, có rãnh và cạnh gờ dọc, đầu quả có vết tích của vòi nhụy hình tròn nhô lên, phần đáy có cuống quả hoặc sẹo cuống quả. Vỏ quả, chất bền, dai. Bóc lớp vỏ quả thấy bên trong ở phần chính giữa có màng vách ngăn màu nâu hơi vàng, phân chia khối hạt thành 3 phần, mỗi phần có khoảng 8 hạt đến 11 hạt; các hạt hình nón, đa diện, đường kính khoảng 5 mm, mặt ngoài màu nâu có màng áo hạt trắng hơi xám phủ ngoài. Hạt có một sống noãn có rãnh dọc và một rốn hạt lõm ở đỉnh nhọn. Chất cứng, nội nhũ màu trắng hơi xám. Có mùi thơm đặc trưng, vị cay và hơi đắng.

Vĩ phẫu

Mặt cắt ngang của hạt: Tế bào mô mềm của áo hạt chứa hạt tinh bột. Tế bào biểu bì của vỏ hạt cứng màu nâu hình chữ nhật với thành tương đối dày, hạ bì gồm một lớp tế bào mô mềm có chứa các chất màu vàng; một hàng tế bào gần vuông hoặc hình chữ nhật; dài 42 µm đến 162 µm theo chiều tiếp tuyến và 48 µm đến 68 µm dài theo hướng xuyên tâm; có chứa những giọt tinh dầu màu vàng; lớp sắc tố gồm có vài hàng tế bào nhỏ màu nâu. Vỏ lụa gồm một hàng tế bào đá, hình giậu, màu nâu hơi đỏ ở thành bên, thành trong dày lên nhiều, khoang nhỏ chứa hạt silic. Tế bào ngoại nhũ chứa hạt tinh bột và một số cụm tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Tế bào nội nhũ chứa hạt aloron và hạt tinh bột.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng Silica gel G.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (17 : 3).

Dung dịch thử: Lấy phần tinh dầu đã cất khi định lượng (xem mục định lượng) hòa tan trong *ethanol* (TT) thành dung dịch có chứa 50 µl trong 1 ml.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan *cineol* trong *ethanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ 20 µl trong 1 ml.

Có thể dùng tinh dầu Thảo quả (mẫu chuẩn), pha như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C trong vài phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết màu xanh da trời có cùng giá trị R_f với vết *cineol* trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng tinh dầu Thảo quả làm dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 1,4 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, hái quả chín, loại bỏ tạp chất, phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bào chế

Thảo quả nhân: Lấy Thảo quả, loại bỏ tạp chất, cho vào nồi sao lửa nhỏ đến màu vàng xém và hơi phồng, lấy ra để nguội, bỏ vỏ cứng, sàng lấy hạt. Khi dùng giã nát.

Khuong Thảo quả nhân: Lấy hạt Thảo quả, thêm nước gừng, trộn đều, cho vào nồi sao nhỏ lửa đến khô, để nguội. Khi dùng giã nát. Cứ 10 kg hạt Thảo quả dùng 1 kg Gừng tươi.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào các kinh tỷ, vị.

Công năng, chủ trị

Táo thấp, ôn trung, trừ đàm, triệt ngược. Chủ trị: Thượng vị đau trướng, tức bí, nôn mửa do hàn thấp, sốt rét.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc.

THẢO QUYẾT MINH (Hạt)***Semen Sennae torae***

Hạt già đã phơi hay sấy khô của cây Thảo quyết minh còn gọi là Quyết minh, Muồng [*Senna tora* (L.) Roxb.; Syn. *Cassia tora* L.], họ Đậu (*Fabaceae*).

Mô tả

Hạt hình trụ, đôi khi hình tháp, hai đầu vát chéo, dài 3 mm đến 6 mm, đường kính 1 mm đến 2,5 mm. Mặt ngoài màu nâu nhạt hay lục nâu, bóng. Bốn cạnh bên thường nổi rõ thành đường gờ, một đường gờ nhô lên thành ngấn.

Thế chất cứng, khó tán vỡ. Cắt ngang thấy nội nhũ màu xám trắng hay vàng nhạt, lá mầm màu vàng hay nâu nhạt. Không mùi, vị hơi đắng.

Định tính

A. Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, đun cách thủy sôi 10 phút. Sau khi nguội, thêm 10 ml *cloroform (TT)* vào hỗn hợp trên, lắc đều, để yên cho tách thành hai lớp. Gạn lấy lớp cloroform, thêm 2 ml đến 3 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, lắc, lớp nước sẽ có màu đỏ.

B. Lấy 0,5 g bột dược liệu cho vào một chén nung nhỏ bằng sứ hay nắp chai bằng kim loại. Hơ nóng nhẹ trên ngọn lửa đèn cồn và khuấy đều lớp bột cho bay hết hơi nước. Sau đó đẩy chén nung bằng một phiến kính thích hợp và đặt lên trên tấm kính tím bông tắm nước lạnh rồi đốt mạnh trong khoảng 5 phút. Lấy tấm kính ra soi dưới kính hiển vi sẽ quan sát thấy những tinh thể hình kim màu vàng. Nhỏ lên đám tinh thể một giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, dung dịch sẽ có màu hồng.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Hạt lép: Không quá 1,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 2,0 %.

Kim loại nặng

Không quá 10 phần triệu Pb; 0,3 phần triệu Cd; 0,1 phần triệu Hg; 1 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Chế biến

Thu hoạch quả già vào cuối mùa thu, khoảng tháng 9 đến 11, phơi khô, đập lấy hạt, loại bỏ tạp chất, phơi khô.

Bào chế

Quyết minh tử: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô ở 50 °C đến 60 °C, khi dùng xay vỡ vụn.

Quyết minh tử sao: Lấy Quyết minh tử sạch, cho vào chảo, đun nhỏ lửa, đảo chậm đến khi mặt ngoài của thuốc chuyển sang màu nâu sẫm, có mùi thơm, lấy ra để nguội.

Bảo quản

Nơi khô ráo thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Hàm, bình. Quy vào các kinh can, thận, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Tả can minh mục, an thần, nhuận tràng. Chủ trị: Đau mắt đỏ, sợ ánh sáng, mắt mờ, chảy nước mắt (sao vàng), đại tiện bí kết (dùng sống), mắt ngủ (sao đen).

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Người hay bị phân lỏng không dùng.

THỊ ĐẾ***Calyx Kaki*****Tai Hồng**

Đài đồng trường đã phơi hay sấy khô thu được từ quả chín của cây Hồng (*Diospyros kaki* L.f.), họ Thị (Ebenaceae).

Mô tả

Dược liệu hình tròn dẹt, đường kính 1,5 cm đến 2,5 cm, ở giữa hơi dày, hơi nhô lên, có sẹo tròn của cuống quả đã rụng, mép tương đối mỏng, xẻ tư, phiến xẻ thường uốn cong lên, dễ gãy nát. Phần đáy còn cuống quả hoặc chỉ còn vết cuống quả, dạng lỗ tròn. Mặt ngoài màu vàng nâu hoặc nâu đỏ, mặt trong màu nâu vàng, phủ đầy lông nhung nhỏ. Chất cứng và giòn, không mùi, vị chát.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluene (đã bão hòa với nước) - methyl format - acid formic (5 : 4 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 70 % (TT)*, ngâm ấm trong 2 giờ, lọc, bay hơi dịch lọc đến khô, hòa tan căn trong 1 ml *methanol (TT)* dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan acid galic chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml.

Hoặc lấy 2 g Thị đế (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và 2 µl dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí, phun *dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % trong ethanol (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của acid galic đối chiếu. Nếu dùng dược liệu chuẩn để chuẩn bị dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Chế biến

Thu hái quả Hồng chín vào mùa thu, mùa đông, bóc lấy tai hồng hoặc thu thập tại quả Hồng sau khi ăn quả, rửa sạch, phơi khô.

Bào chế

Rửa sạch, loại bỏ tạp chất và cuống quả, phơi khô hoặc đập nát vụn, phơi khô.

Bảo quản

Đề nơi khô, thoáng mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, sáp, bình. Vào kinh vị.

Công năng, chủ trị

Giáng nghịch, hạ khí. Chủ trị: Nắc (ách nghịch).

Cách dùng, liều lượng

Ngày uống từ 4,5 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc.

THIÊN MA (Thân rễ)***Rhizoma Gastrodiae elatae***

Thân rễ khô của cây Thiên ma (*Gastrodia elata* Bl.), họ Lan (Orchidaceae).

Mô tả

Thân rễ hình bầu dục hoặc hình trụ dẹt hơi cong, dài 3 cm đến 15 cm, rộng 1,5 cm đến 6 cm, dày 0,5 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu trắng hơi vàng đến vàng nâu, có vân nhăn dọc và nhiều vân vòng tròn ngang của những chồi búp tiềm tàng, đôi khi thấy những dải nhỏ màu nâu. Phía đỉnh (đầu) được liệu có những chồi hình mỏ vịt, màu nâu đỏ đến nâu sẫm hoặc có vết thân; phía đuôi có một vết sẹo tròn. Chất cứng rắn như sừng, khó bẻ gãy, mặt bẻ tương đối phẳng, màu trắng hơi vàng đến màu nâu. Mùi nhẹ, vị hơi ngọt.

Bột

Bột màu trắng hơi vàng đến màu vàng nâu. Soi dưới kính hiển vi thấy: tế bào mô mềm hình bầu dục hoặc đa số có hình nhiều cạnh, đường kính 70 µm đến 180 µm; thành dày 3 µm đến 8 µm, hóa gỗ, có lỗ rõ rệt. Tinh thể calci oxalat hình kim xếp thành bó hay rải rác, dài 25 µm đến 75 µm (có thể tới 93 µm). Khi ngâm trong thuốc thử Smith, thấy các tế bào mô mềm chứa hạt tinh bột nhỏ hình trứng dài, bầu dục dài hoặc gần hình tròn, cho màu nâu hoặc tím hơi nâu với dung dịch iod-iodid (TT). Mảnh mạch xoắn, mạch mạng, đường kính 8 µm đến 30 µm.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml nước, ngâm trong 4 giờ, thỉnh thoảng lắc đều, lọc. Thêm vào dịch lọc 2 giọt đến 4 giọt dung dịch iod-iodid (TT), sẽ hiện màu đỏ tím hay màu nâu rượu vang đỏ.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G60F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - nước (9 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml ethyl acetat (TT), lắc siêu âm trong 30 phút, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1 g bột Thiên ma (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric (TT). Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi xuất hiện vết. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6).

Tạp chất

Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch từ mùa đông đến mùa xuân năm sau, rửa sạch ngay, đồ kỹ, trải mỏng, sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bào chế

Rửa sạch, ủ mềm hay đồ đến mềm, thái lát mỏng, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Nơi thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, qui kinh

Tân, ôn. Vào kinh can.

Công năng, chủ trị

Bình can tức phong. Chủ trị: Đau đầu, chóng mặt, bán thân bất toại, trẻ em kinh phong, phá thương phong (uốn ván), động kinh.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người âm hư.

THIÊN MÔN ĐÔNG (Rễ)***Radix Asparagi cochinchinensis*****Thiên đông, Tóc tiên leo**

Rễ đã đồ chín, rút lõi, phơi hay sấy khô của cây Thiên môn đông [*Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr.], họ Thiên môn đông (Asparagaceae).

Mô tả

Dược liệu hình thoi, hơi cong, dài 5 cm đến 18 cm, đường kính 0,5 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu vàng nhạt đến vàng nâu (màu hổ phách), trong, mờ, sáng bóng hoặc có vân dọc sâu hoặc nông không đều, có khi còn sót lại vỏ ngoài màu nâu xám. Chất cứng, dai, có chất nhầy dính, mặt cắt dạng chất sừng, trụ giữa màu trắng ngà. Mùi nhẹ, vị hơi đắng.

Vi phẫu

Đôi khi còn vết của lớp ngoài cùng của rễ. Vỏ dày, các tế bào đá ở phía ngoài màu nâu vàng nhạt, hình chữ nhật thuôn, hình bầu dục dài, đường kính 32 µm đến 110 µm, thành dày, có những lỗ nhỏ sát nhau và ống trao đổi rõ, một số sắp xếp theo hình vòng không liên tục, rải rác có tế bào chứa chất nhầy trong có chứa tinh thể calci oxalat hình kim, nội bì rõ rệt. Sợi libe và sợi gỗ có khoảng 31 đến 135 sợi, sắp xếp xen kẽ với một số mạch rộng dần về phía tủy. Tế bào tủy cũng chứa tinh thể calci oxalat hình kim.

Bột

Màu trắng ngà, tinh thể calci oxalat hình kim xếp thành bó hay rải rác, dài 40 µm đến 99 µm. Tế bào đá hình chữ nhật dài, bầu dục dài hoặc tròn, có loại dài 460 µm, đường kính 32 µm đến 110 µm, thành hơi dày hay rất dày, với các lỗ nhỏ sát nhau và các ống lỗ. Tế bào mô mềm gỗ hình chữ nhật, một số có phần cuối vát nhọn, thành tế bào hơi dày. Mạch gỗ có lỗ viền, đường kính 18 µm đến 110 µm.

Độ ẩm

Không quá 16,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Rễ non teo: Không quá 2 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 80,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Dùng phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 50 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch rễ (củ) ở cây đã mọc trên 2 năm vào mùa thu và mùa đông (thường là tháng 10 đến 12), đào lấy rễ củ, rửa sạch, bỏ gốc thân và rễ con, luộc hoặc đồ đến khi mềm, trong lúc nóng loại bỏ vỏ ngoài, rút lõi, phơi hay sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, nhanh chóng rửa sạch, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, khô, hàn. Vào các kinh phế, thận.

Công năng, chủ trị

Dưỡng âm, nhuận táo, thanh phế, sinh tân. Chủ trị: Phế ráo ho khan, đờm dính, họng khô, miệng khát, ruột ráo táo bón.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, thuốc cao hay thuốc bột. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Tỳ vị hư hàn, ỉa chảy không nên dùng.

THIÊN NIÊN KIẾN (Thân rễ)***Rhizoma Homalomenae occultae***

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Thiên niên kiện [*Homalomena occulta* (Lour.) Schott], họ Ráy (Araceae).

Mô tả

Dược liệu là đoạn thẳng hay cong queo, có nhiều xơ, chắc, cứng, dài 10 cm đến 30 cm, đường kính 1 cm đến 1,5 cm, hai đầu đều nhau. Mặt ngoài màu nâu nhạt hay nâu sẫm, có nhiều nếp nhăn dọc hay vết tích của rễ con. Bề ngang dược liệu hơi dai, vết bẻ có màu nâu nhạt hay nâu sẫm, có một số sợi màu vàng ngà lờm chớm như bàn chải. Mùi thơm hắc, vị cay.

Vi phẫu

Lớp bản màu vàng nâu. Mô mềm gồm các tế bào tròn, có thành mỏng. Từ ngoài vào trong quan sát thấy: Các đám sợi lớn, thành dày; các bó libe-gỗ. Sự sắp xếp giữa gỗ và libe cũng có nhiều dạng khác nhau: những bó libe-gỗ lớn có libe nằm ở giữa, mạch gỗ xếp xung quanh thành một vòng; những bó libe-gỗ nhỏ, mạch gỗ thường không khép kín, nằm ở hai phía đối diện của libe, một phía chỉ có một đến hai mạch gỗ, phía đối diện nhiều mạch tập trung thành hình vòng cung. Những bó libe-gỗ này thường sắp xếp gần với các bó sợi. Trong mô mềm có thể thấy các tế bào chứa tinh dầu, tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình kim và hình cầu gai, các khoảng gian bào.

Bột

Màu vàng nâu. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều bó sợi gồm các tế bào dài, thành hơi dày, khoang rộng, có ống trao đổi rõ. Tế bào mô cứng có thành hơi dày, khoang hơi rộng, có ống trao đổi rõ. Mảnh tế bào mô mềm gồm những tế bào hình chữ nhật, hình bầu dục hoặc hình tròn, bên trong có chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai hoặc các bó tinh thể hình kim, các tế bào chứa tinh dầu màu vàng đậm, thành mỏng, hình trái xoan. Nhiều mảnh mạch vạch, mạch mạng, mạch xoắn. Hạt tinh bột hình trái xoan. Các tinh thể calci oxalat hình cầu gai và hình kim nằm rải rác bên ngoài.

Định tính

Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ether* (TT), lắc trong 30 phút, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, bốc hơi dung môi trên cách thủy đến cạn. Thêm vào cạn 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch vanilin* 1 % trong *acid sulfuric* (TT). Xuất hiện màu đỏ tía.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp “Định lượng tinh dầu trong dược liệu” (Phụ lục 12.7). Dùng bình cầu 1 lít, 50 g dược liệu đã được tán thành bột thô, 300 ml nước, cất trong 4 giờ. Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu không ít hơn 0,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái vào mùa xuân hay mùa thu, thu lấy những thân rễ già, rửa sạch, bóc loại bỏ vỏ ngoài và các rễ con, cắt thành đoạn ngắn 10 cm đến 30 cm, sấy nhanh ở nhiệt độ 50 °C cho khô đều mặt ngoài, bóc bỏ vỏ ngoài và rễ con. Tiếp tục phơi hoặc sấy ở 50 °C đến 60 °C cho đến khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, ủ mềm, thái lát, phơi râm hay sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, tân, cam, ôn. Quy vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Trừ phong thấp, cường cân cốt. Chủ trị: phong hàn thấp gây nên: thất lưng và đầu gối lạnh đau, chân co rút tê bại.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4,5 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc hoặc ngâm rượu.

Dùng ngoài: Thân rễ tươi giã nát, sao nóng, bóp vào chỗ đau nhức, hoặc ngâm Thiên niên kiện khô với rượu xoa bóp chỗ đau nhức, tê bại và phong thấp.

Kiểm kỵ

Không dùng cho người âm hư hỏa vượng, mồm khô, họng đắng.

THIÊN TRÚC HOÀNG***Concretio Silicae Bambusae***

Thiên trúc hoàng là cặn khô từ chất tiết trong thân cây Hóp sào hoặc cây Nứa (*Bambusa textilis* McClure hoặc *Schizostachyum chinense* Rendle), họ Lúa (Poaceae).

Mô tả

Cặn tạo thành là những khối có hình dáng và kích thước không nhất định, màu xanh xám, hơi vàng, trắng xám hoặc trắng, trong mờ và hơi bóng láng. Thề chất cứng, khó bẻ gãy, dễ hút ẩm. Không mùi, khi nếm thấy dính vào lưỡi.

Định tính

Vô cơ hóa hoàn toàn khoảng 1 g dược liệu, hòa cần với nước, lọc lấy phần tan. Lấy 2 ml dịch lọc thêm 2 ml *dung dịch ammoni molybdat* [Hòa tan 10 g *ammoni*

molybdat (TT) trong nước vừa đủ 100 ml], lắc đều, thêm 1 ml *dung dịch sắt (II) sulfat* 8 % (TT), dung dịch sẽ có màu nâu đen sau 5 phút sẽ chuyển thành màu xanh dương bền.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Chỉ số thể tích

Cho nhẹ nhàng 10 g bột dược liệu cỡ trung bình vào ống đong, thể tích dược liệu không nhỏ hơn 35 ml.

Hệ số hút nước

Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml nước, để yên một lát (khoảng 3 phút), lọc qua giấy lọc đã thấm ẩm, dịch lọc không được quá 44 ml.

Tro toàn phần

Không thấp hơn 80,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Thu thập dược liệu vào mùa thu và mùa đông. Lấy những cục chất tiết màu trắng đục hoặc trắng trong ở những đốt cây tre bị đốt cháy. Loại bỏ tạp chất, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn. Vào kinh tâm.

Công năng, chủ trị

Trừ đàm nhiệt, thanh tâm, trấn kinh. Chủ trị: Tỉnh thần hôn ám, trúng phong đàm mê tâm khiếu. Trẻ em kinh giật và dạ đề do đàm nhiệt.

Cách dùng, liều lượng:

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, phối hợp với các vị thuốc khác.

THỎ TY TỬ***Semen Cuscutae***

Hạt lấy ở quả chín đã phơi hay sấy khô của dây Tơ hồng (*Cuscuta chinensis* Lam.), họ Tơ hồng (Cuscutaceae).

Mô tả

Hạt gần hình cầu, đường kính 0,10 cm đến 0,15 cm. Mặt ngoài có màu nâu xám hoặc nâu vàng, có rất nhiều những điểm nhỏ nhô lên. Một đầu có rãnh hình dải hẹp, hơi trũng xuống. Chất rắn chắc, khó bóp vỡ. Mùi thơm nhẹ. Vị nhạt.

Bột

Màu nâu vàng hoặc nâu sẫm. Tế bào biểu bì của áo hạt hình gần vuông hoặc gần hình chữ nhật, thành

tương đối dày khi nhìn từ mặt bên; có hình đa giác gần tròn, thành tế bào ở các góc dày lên khi nhìn trên bề mặt. Tế bào vỏ quả đều đặn xếp song song với nhau, có hai hàng tế bào khi nhìn từ mặt bên; các tế bào hình đa giác bị co lại khi nhìn trên bề mặt. Tế bào ngoại nhũ hình đa giác hoặc gần tròn, có chứa các hạt aleuron trong khoang rộng. Tế bào lá mầm chứa đầy hạt aleuron và những hạt dầu béo.

Định tính

Lấy một lượng nhỏ dược liệu, ngâm vào nước sôi, trên mặt nước xuất hiện một lớp chất nhầy dính, đun sôi thêm đến khi vỏ hạt nứt ra sẽ để lộ phôi cuộn tròn màu vàng nhạt.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, khi quả chín, thu lấy dây mang quả, phơi khô, đập lấy hạt rồi loại bỏ tạp chất.

Bào chế

Thỏ ty tử: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi khô.
Thỏ ty tử chế muối: Phun nước muối lên dược liệu sạch, trộn đều cho hạt ngấm nước, sao nhỏ lửa đến khi hạt hơi phồng lên, lấy ra để nguội. Cứ 100 kg dược liệu cần 2 kg muối. Dược liệu sau khi chế mặt ngoài màu vàng nâu, nứt nẻ và có mùi thơm nhẹ. Ngâm vào nước sôi sẽ xuất hiện một lớp màng nhầy trên mặt. Sau khi sắc có thể lộ ra phôi cuộn màu vàng đến màu nâu thẫm.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng.

Tính vị, quy kinh

Cam, ôn. Vào các kinh can, thận, tỳ.

Công năng, chủ trị

Bổ thận ích tinh, dưỡng can minh mục, kiện tỳ chỉ tả.
Chủ trị: Liệt dương, di tinh, đái không cầm được; mắt mờ, mắt hoa, ỉa lỏng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

THỎ HOÀNG LIÊN (Thân rễ)

Rhizoma Thalictri foliolosi

Thân rễ có kèm theo rễ đã phơi hay sấy khô của cây Thỏ hoàng liên (*Thalictrum foliolosum* DC.), họ Hoàng Liên (Ranunculaceae).

Mô tả

Đoạn thân rễ màu nâu sẫm dài 2 cm đến 8 cm, đường kính 0,3 cm đến 1,1 cm, thường cong queo, có nhiều đốt khúc khuỷu. Dễ bẻ gãy, vết bẻ có màu vàng nhạt, không phẳng. Mặt cắt ngang có 2 phần rõ rệt: Phần vỏ màu nâu sẫm, phần gỗ màu vàng, ruột màu xám. Rễ dài 3 cm đến 15 cm, đường kính 0,1 cm đến 0,4 cm, mặt ngoài màu nâu nhạt, có các nếp nhăn dọc. Rễ mềm hơn thân rễ và mặt cắt ngang cũng có hai phần rõ rệt, phần ngoài màu vàng nhạt, lõi gỗ phía trong màu vàng đậm. Vị rất đắng.

Vi phẫu

Lớp vỏ gồm vài hàng tế bào bị bẹp, màng hơi dày và nhăn nheo. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình chữ nhật hay hình nhiều cạnh, thành mỏng. Có đám sợi xếp thành một vòng trong mô mềm vỏ, mỗi bó đặt trước một lớp libe-gỗ. Libe và gỗ cấp 2 xếp thành từng bó. Libe ở phía ngoài, gồm những tế bào nhỏ hình đa giác xếp đều đặn thành dãy liên tục hay gián đoạn. Gỗ ở phía trong, mỗi bó có thể không phân nhánh hay phân ra nhiều nhánh. Tia ruột xen kẽ giữa các bó libe-gỗ. Mô mềm ruột gồm những tế bào to hơn mô mềm vỏ.

Bột

Mảnh bản màu vàng nâu. Mảnh mô mềm gồm những tế bào hình chữ nhật hay hình nhiều cạnh, thành mỏng. Sợi đứng riêng lẻ hay tập trung thành từng bó. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai và hình khối chữ nhật. Mảnh mạch mạng, mạch điểm. Tế bào mô cứng có thành dày và ống trao đổi rõ. Các hạt tinh bột hình chuông hoặc hình trứng, hình tròn.

Định tính

A. Lấy khoảng 3 g bột dược liệu cho vào bình nón 100 ml, thêm 30 ml *ethanol* 90 % (TT), đun sôi cách thủy 5 phút. Lọc lấy dược dịch A. Lấy khoảng 5 ml dung dịch A cho vào chén sứ, cô cách thủy đến khô, hòa tan cần với 3 ml *dung dịch acid sulfuric* 2 % (TT) rồi chuyển vào một ống nghiệm, cho thêm vài giọt *nước clor* (TT) hoặc *nước brom* (TT) hay *dung dịch cloramin T* 10 % (TT), lắc đều sẽ thấy dung dịch chuyển từ màu vàng sang màu đỏ.

B. Lấy 2 giọt dung dịch A đặt lên phiến kính, để bốc hơi cho khô, thêm 1 giọt *acid hydrocloric* (TT) hay *dung dịch acid nitric* 25 % (TT). Đậy lá kính lên để yên khoảng 15 phút đến 20 phút rồi đem quan sát dưới kính hiển vi sẽ thấy những tinh thể hình kim màu vàng.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Hệ dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac đậm đặc (80 : 20 : 1).

Dung dịch thử: Dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch berberin clorid chuẩn 1 % trong ethanol 90 % (TT) và dung dịch palmatin clorid chuẩn 1 % trong ethanol 90 % (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bay hết dung môi, phun lên bản mỏng *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, ít nhất có hai vết có màu đỏ cam và có cùng giá trị R_f với vết berberin và palmatin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,5 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất hữu cơ: Không quá 1,0 %.

Tạp chất vô cơ: Không quá 0,5 %.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 2,5 g bột dược liệu cho vào bình Zaitchenko hoặc Soxhlet, chiết bằng 50 ml *ethanol 90 % (TT)* cho đến khi hết màu vàng. Cất thu hồi ethanol trên cách thủy cho tới khi còn khoảng 1/10 thể tích ban đầu. Thêm 30 ml nước và 2 g đến 3 g *magnesi oxyd (TT)*, tiếp tục đun trên cách thủy ở 60 °C đến 70 °C trong 15 phút, thỉnh thoảng lắc bình. Lọc lấy dịch lọc và cô đến gần dưới áp suất giảm, rửa cặn bằng 30 ml đến 40 ml *nước* nóng, rửa làm nhiều lần cho đến khi nước rửa không còn màu vàng nữa. Gộp các nước rửa với dịch lọc vào một bình có dung tích 200 ml. Để nguội, thêm 5 ml *dung dịch kali iodid 50 % (TT)* và khuấy để kết tủa berberin iodid. Ly tâm, gạn bỏ dịch trong ở phía trên. Thêm vào tủa còn lại 20 ml *dung dịch kali iodid 2 % (TT)* và khuấy thật kỹ, ly tâm, bỏ dịch trong ở phía trên. Dùng 10 ml *nước cất* (chia làm nhiều lần) chuyển tủa vào một bình nón có nút mài dung tích 250 ml. Đun trên cách thủy, lắc bình cho berberin iodid phân tán đều trong nước. Khi nhiệt độ trong bình lên tới 70 °C, thêm *aceton (TT)* (khoảng 8 ml đến 9 ml), vừa thêm vừa lắc tới khi tủa berberin iodid vừa tan hết thì ngừng ngay. Đậy nút bình, tiếp tục đun 1 phút đến 2 phút. Sau đó thêm thật nhanh 3 ml *dung dịch amoniac (TT)*, lắc bình cho đến khi berberin-aceton kết tủa. Để ở chỗ mát một đêm. Lọc tủa berberin-aceton vào phễu xóp thủy tinh G₃ (đường kính lỗ xóp 16 µm đến 40 µm) đã cân trước. Hứng dịch lọc vào một bình khác, đo thể tích dịch lọc. Rửa tủa bằng 10 ml *ether (TT)*, sấy khô ở 105 °C trong 3 giờ, để nguội trong bình hút ẩm rồi cân.

1 g tủa tương ứng với 898,2 mg berberin.

1 ml dịch lọc tương ứng với 0,0272 mg berberin.

Hàm lượng phần trăm berberin (X %) trong dược liệu khô theo công thức:

$$X\% = \frac{(898,2 \times a) + (0,0272 \times V)}{10 \times P}$$

Trong đó:

P là khối lượng dược liệu định lượng đã trừ độ ẩm (g);

a là khối lượng tủa thu được (g);

V là thể tích dịch lọc đo được (ml).

Dược liệu phải chứa ít nhất 1,0 % berberin (tính theo dược liệu khô kiệt).

Chế biến

Thường thu hoạch rễ vào tháng 6 đến 8. Lúc trời khô ráo, đào lấy rễ và thân rễ, rửa nước thật nhanh cho sạch đất cát, cắt bỏ rễ con và gốc thân, rồi phơi hay sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái mỏng phơi khô hoặc tẩm rượu sao khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, trong bao bì kín, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khổ, hàn. Vào các kinh can, tâm, tỳ, vị, đờm, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, giải độc. Chủ trị: Ly, nục huyết, tâm quý, sốt cao, đau mắt, hoàng đản, đầy hơi, viêm họng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 12 g, dạng thuốc bột, thuốc viên và thuốc sắc.

Dùng ngoài (nước sắc, ngâm) trị lở loét ở miệng. Tán Thỏ hoàng liên với đậu đỏ, đắp trị trĩ.

Kiêng kỵ

Thiếu máu, khó tiêu, chứng hàn.

THỎ PHỤC LINH (Thân rễ)

Rhizoma Smilacis glabrae

Khúc khắc

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Thỏ phục linh, còn có tên là Khúc khắc (*Smilax glabra* Roxb.), họ Khúc khắc (Smilacaceae).

Mô tả

Dược liệu là đoạn có hình trụ hơi dẹt hoặc khối dài ngắn không đều, mang các mấu chồi, dài 5 cm đến 22 cm, đường kính 2 cm đến 7 cm. Mặt ngoài màu nâu vàng hay nâu tím, có vết sẹo thân nhô lên và các rễ nhỏ và rễ sợi cứng chắc còn sót lại. Chất cứng, khó bẻ gãy, mặt gãy có sợi, màu vàng nâu hoặc nâu đỏ, có thể thấy các chấm của các bó mạch và nhiều chấm sáng nhỏ hơn. Không mùi; vị hơi ngọt và se.

Vi phẫu

Bên ngoài là lớp vỏ, tế bào có thành dày, màu nâu đen. Mô mềm có 2 lớp: Lớp ngoài hẹp, không chứa tinh bột, chứa chất màu từ nâu đến đỏ, tế bào thường

có hình nhiều cạnh, có khi có lớp tế bào mô cứng hẹp, nằm sát phía trong lớp mô mềm ngoài. Lớp mô mềm trong chiếm cả phần còn lại, tế bào hình nhiều cạnh hoặc kéo dài, chứa nhiều hạt tinh bột, đôi khi có những tế bào chứa chất màu. Ở cả 2 lớp mô mềm có những tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình kim, tụ họp lại thành từng bó. Các bó libe gỗ xếp rải rác trong mô mềm. Rải rác có những đám sợi và mạch gỗ bị cắt theo chiều dọc.

Bột

Màu nâu nhạt, có rất nhiều hạt tinh bột. Hạt đơn hình cầu, hình đa giác hoặc hình vuông, đường kính 8 μm đến 48 μm , rón có dạng kẽ nứt, hình sao, hình chữ Y hoặc dạng điểm. Hạt lớn có thể thấy gợn vân. Hạt kép có từ 2 đến 4 hạt hợp thành. Tinh thể calci oxalat hình kim, dài 40 μm đến 144 μm , ở trong tế bào chứa chất nhầy hoặc nằm rải rác khắp nơi. Tế bào mô cứng dạng bầu dục, vuông hay tam giác, đường kính 25 μm đến 128 μm , dày đặc ống lỗ, ngoài ra có tế bào mô cứng màu nâu sẫm dạng sợi dày, dài, đường kính 50 μm , 3 mặt thành dày, 1 mặt thành mỏng. Những sợi hợp thành bó hoặc nằm rải rác, đường kính 22 μm đến 67 μm . Có nhiều ống mạch điểm và quản bào, đa số có mạch điểm kéo dài thành hình thang.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ non xốp: Không quá 2,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Mùa hạ, mùa thu, đào lấy thân rễ, loại bỏ rễ con, rửa sạch, phơi, sấy khô hoặc đang lúc tươi, thái lát mỏng, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Lấy dược liệu khô chưa thái lát, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát mỏng, phơi khô dùng.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, đậm, bình. Vào các kinh can, vị.

Công năng, chủ trị

Trừ thấp, giải độc, lợi niệu, thông lợi các khớp. Chủ trị: Tràn nhạc, lở ngứa, giang mai, tiểu đục, xích bạch đới, đau nhức xương khớp, trúng độc thủy ngân.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 30 g, dạng thuốc sắc, cao thuốc hoặc hoàn tán.

Kiêng kỵ

Không nên uống nước chè khi dùng thuốc, không dùng cho người có can thận âm hư.

THÔNG THẢO (Lỗi thân)

Medulla Tetrapanacis papyrifera

Lõi thân khô của thân cây Thông thảo [*Tetrapanax papyrifera* (Hook.) K. Koch], họ Nhân sâm (Araliaceae).

Mô tả

Hình trụ, dài 20 cm đến 40 cm, đường kính 1 cm đến 2,5 cm. Mặt ngoài có màu trắng hoặc vàng nhạt, có rãnh dọc nông. Thở nhẹ, chất mềm, xốp, hơi có tính đàn hồi, dễ bẻ gãy, mặt bẻ phẳng, có màu trắng bạc, sáng bóng, phần giữa có tâm rỗng, đường kính 0,3 cm đến 1,5 cm, hoặc có màng mỏng trong mờ, sắp xếp hình thang khi nhìn trên mặt cắt dọc. Ruột đặc ít thấy. Không mùi, vị nhạt.

Vì phẫu

Toàn bộ là tế bào mô mềm hình bầu dục, hình tròn hoặc hình đa giác. Tế bào phía ngoài nhỏ hơn, lỗ vân rõ. Một số tế bào chứa cụm tinh thể calci oxalat có đường kính 15 μm đến 64 μm .

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.4).

Chế biến

Chặt lấy thân cây thông thảo vào mùa thu, cắt thành từng đoạn dài 20 cm đến 40 cm, phơi hơi héo. Dùng gậy gỗ tròn gần bằng lõi thông thảo đẩy lõi ra, làm cho thẳng, phơi khô. Khi dùng phải loại tạp chất và thái lát.

Bảo quản

Để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Cam, đậm, vị hàn. Vào các kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt lợi tiểu, thông kinh hạ sữa. Chủ trị: Ngũ lâm, thủy thũng, sau đẻ không ra sữa.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 5 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Người khí hư không có nhiệt, thai phụ không được dùng.

THỰC ĐỊA***Radix Rehmanniae glutinosae praeparata***

Rễ củ đã chế biến của cây Địa hoàng [*Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch.], họ Hoa mồm chó (Scrophulariaceae).

Mô tả

Phiến dày hoặc khối không đều. Mặt ngoài bóng. Chất mềm, dai, khó bẻ gãy. Mặt cắt ngang đen nhánh, mịn bóng. Không mùi, vị ngọt.

Độ ẩm

Không quá 18,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 65,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng nước làm dung môi.

Chế biến

Cách 1: (Thực địa).

Lấy Sinh địa đã rửa sạch, cho vào thùng, xếp củ to ở dưới, củ nhỏ ở trên. Cứ 90 kg Sinh địa thêm 10 lít rượu. Đun đến sôi, tiếp tục đun nhỏ lửa từ 6 giờ đến 8 giờ cho đến cạn. Trong khi đun, cứ khoảng 1 giờ lại mức nước ở đáy nồi tưới lên các củ cho thấm đều. Sau lấy ra phơi 3 ngày, rồi lại đem nấu lần thứ 2 với nước gừng. Dùng 2 kg Gừng tươi giã nhỏ cho vào nước, khuấy đều, lọc lấy nước, nấu với Sinh địa. Sau đó lại vớt Sinh địa ra phơi, rồi lại nấu. Làm như vậy 5 lần đến 7 lần, đến khi dược liệu có màu đen nhánh.

Cách 2: (Từ thực địa).

Lấy Sinh địa đã rửa sạch, thêm rượu, trộn đều, cho vào vò hoặc bình đập nát, đặt trong nồi nước, đun cách thủy tới khi củ Sinh địa hút hết rượu, lấy ra phơi tới khi không dính tay, thái phiến dày, phơi hoặc sấy khô. Cứ 100 kg Sinh địa dùng 30 lít đến 50 lít rượu.

Cách 3: (Đồ thực địa).

Lấy Sinh địa đã rửa sạch, đồ tới khi đen nhuận, lấy ra phơi khô đến 8 phần 10, thái thành phiến dày, lại phơi khô.

Bảo quản

Đựng trong thùng gỗ, để nơi khô mát, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Cam, vị ôn. Vào các kinh can, thận, tâm.

Công năng, chủ trị

Tư âm, bổ huyết, ích tinh, tủy. Chủ trị: Can, thận âm hư, thất lưng đầu gối mỏi yếu, cốt chùng, triều nhiệt, mồ hôi trộm, di tinh, âm hư ho suyễn, hao khát. Huyết hư, đánh trống ngực hồi hộp, kinh nguyệt không đều, rong huyết, chóng mặt ù tai, mắt mờ, táo bón.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Kỵ sắt. Tỷ vị hư hàn không dùng.

THUYỀN THOÁI***Periostracum Cicadae*****Xác ve sầu**

Xác lột của con Ve sầu lúc có cánh (*Cryptotympana pustulata* Fabricius), họ Ve sầu (*Cicadidae*).

Mô tả

Thuyền thoái hình bầu dục, hơi cong, dài chừng 3,5 cm, rộng 2 cm. Mặt ngoài màu nâu vàng, trong mờ, sáng bóng. Đầu có một đôi râu dạng sợi, thường bị rụng, hai mắt lồi mọc ngang, trán lồi ra ở phía trước, miệng rộng, môi trên rộng, ngắn, môi dưới dài ra thành vòi hình ống. Ở lưng có vết nứt hình chữ thập, miệng nứt rách cuộn vào phía trong, hai bên sống lưng có hai đôi cánh nhỏ, ở ngực và phía bụng có 3 đôi chân phủ lông nhỏ màu nâu vàng, đôi chân trước to, khoẻ, có răng cưa; hai đôi chân sau hơi nhỏ, dài. Bụng tròn, tù, có 9 đốt. Thở nhẹ, chất mỏng, trong rỗng, dễ vỡ. Không mùi, vị nhạt.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9. 6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến

Vào mùa hè, thu, lấy xác ve sầu, loại bỏ đất cát, rửa sạch, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, trong lọ kín, tránh làm vụn nát, tránh sâu, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn. Vào các kinh phế can.

Công năng, chủ trị

Tán phong nhiệt, giải kinh, thấu chẩn, tiêu màng. Chủ trị: Cảm mạo phong nhiệt, đau họng, tiếng khàn; sỏi không mọc, phong chẩn ngứa, mắt đỏ có màng, kinh phong.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Chứng hư không do phong nhiệt, phụ nữ có thai không nên dùng.

THƯƠNG LỤC (Rễ củ)***Radix Phytolaccae***

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Thương lục (*Phytolacca esculenta* Van Houtte), họ Thương lục (*Phytolaccaceae*).

Mô tả

Dược liệu là những phiến mỏng hoặc những mảnh cắt ngang, dọc, dày mỏng không đều. Mặt ngoài màu vàng xám hoặc nâu xám. Những mảnh cắt ngang có hình dạng cong queo, mép ngoài teo lại, đường kính 2 cm đến 8 cm. Mặt cắt ngang màu trắng ngà đến nâu vàng nhạt, gỗ lõi lên tạo thành nhiều vòng đồng tâm. Những lát cắt dọc thường bị cong lên hoặc cuộn lại, dài khoảng 5 cm đến 8 cm, rộng khoảng 1 cm đến 2 cm, có thể thấy những vân gỗ lõi lên, song song với nhau. Thở chất cứng. Mùi thơm nhẹ; vị hơi ngọt sau tê.

Vĩ phẫu

Lớp bần có từ vài hàng tế bào đến trên 10 hàng. Vỏ hẹp. Mô mềm vỏ có cấu trúc cấp 3 với nhiều vòng tầng phát sinh libe gỗ đồng tâm, mỗi vòng gồm nhiều bó libe-gỗ. Libe ở phía ngoài, gỗ ở phía trong. Sợi gỗ nhiều, thường tụ thành đám hoặc bao quanh mạch gỗ. Tế bào mô mềm có chứa tinh thể calci oxalat hình kim, một số ít tế bào chứa các tinh thể calci oxalat hình lăng trụ đứng riêng lẻ hoặc từng đám; tế bào mô mềm còn chứa các hạt tinh bột. Tia ruột hẹp.

Bột

Bột màu xám nhạt, soi kính hiển vi thấy: Tinh thể calci oxalat dạng hình kim nhỏ, dài 40 µm đến 72 µm hợp thành bó hoặc đứng rải rác; tinh thể calci oxalat hình lăng trụ, riêng lẻ hoặc từng đám. Sợi gỗ phần lớn xếp thành bó, đường kính 10 µm đến 20 µm, thành dày hoặc hơi dày với nhiều vết lõm hình chữ X. Tế bào bần màu vàng nâu, hình chữ nhật hoặc hình đa giác, một số ít chứa những hạt nhỏ. Hạt tinh bột đơn, hình gần tròn hoặc hình thuôn, đường kính 3 µm đến 28 µm, rốn hình khe nứt, dạng điểm, hình sao và hình chữ V, vân không rõ; ở những hạt lớn có thể thấy rõ vân tăng trưởng đồng tâm, rốn lệch tâm; hạt tinh bột kép 2 đến 3, ít gặp.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (7: 1)

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột thô dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc siêu âm ở 50 °C đến 60 °C trong 10 phút, lọc. Bã được chiết như trên một lần nữa. Gộp các dịch chiết *ethanol*, bốc hơi trên cách thủy đến cạn. Hòa cồn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Thương lục (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Châm lên bản mỏng 30 µl mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy ở 120 °C đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có những vết tương tự về R_f và màu sắc với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C đến 105 °C, áp suất thường, đến khối lượng không đổi).

Tạp chất

Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 2,5 % (Phụ lục 9.7).

Kim loại nặng

Không quá 20 ppm (Phụ lục 9.4.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 7,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu cho đến đầu mùa xuân, loại bỏ rễ con, đất cát phơi khô.

Bào chế

Thương lục phiến: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát, hay cắt thành đoạn, phơi hay sấy khô.

Thổ thương lục (Chế dấm): Thương lục rửa sạch, ủ mềm, thái lát, ủ với dấm cho mềm, thái lát, ủ với dấm cho thấm đều, sao nhỏ lửa cho tới khô. Dùng 3 lít dấm cho 10 kg Thương lục.

Bảo quản

Nơi khô ráo, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn, có độc. Vào kinh thận.

Công năng, chủ trị

Thuộc xô và trục thủy, giải độc tiêu viêm. Chủ trị: Phù toàn thân, vô niệu, táo bón. Dùng ngoài chữa mụn nhọt, đau nhức.

Cách dùng và liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài, đắp tại chỗ với lượng thích hợp rễ tươi nghiền nát hay bột của rễ khô.

Kiêng kỵ

Không dùng cho phụ nữ có thai, người thủy thũng do tỳ hư.

THƯƠNG TRUẬT***Rhizoma Atractylodis***

Thân rễ đã phơi khô của cây Mao thương truật [*Atractylodes lancea* (Thunb.) DC.], hoặc cây Bắc thương truật [*Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz], họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Mao thương truật: Dược liệu dạng chuỗi hạt không đều hoặc những mẫu nhỏ hình trụ, hơi cong, có khi phân nhánh, dài 3 cm đến 10 cm, đường kính 1 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu nâu xám, có vân nhăn và những đường vân xoắn ngang và vết tích của rễ con. Phần đỉnh có những vết sẹo của thân. Chất cứng, chắc, mặt bề màu vàng nhạt hoặc trắng xám, rải rác có nhiều khoang dầu màu vàng da cam hoặc đỏ nâu, để hở lâu ngoài không khí sẽ có kết tinh thành hình kim nhỏ, màu trắng. Mùi đặc trưng, vị hơi ngọt, cay và đắng.

Bắc thương truật: Có dạng nhiều bướu dẹt hoặc hình trụ, dài 4 cm đến 9 cm, đường kính 1 cm đến 4 cm. Mặt ngoài màu nâu hơi đen, khi gọt vỏ ngoài có màu nâu hơi vàng. Chất xốp, mặt bề rải rác có túi dầu màu vàng. Mùi thơm nhẹ, vị cay và đắng.

Vì phẫu

Lớp vỏ ngoài có các tế bào đá, mô mềm vỏ không có các bó sợi; các khoang dầu có chứa các chất màu nâu nhạt đến nâu vàng, tụ lại ở phần cuối của tia ruột. Nhiều bó mạch bao quanh gỗ tạo thành bó, xấp xỉ theo hướng xuyên tâm ở phần gần tầng phát sinh. Các lỗ mạch và tia ruột tương tự như các khoang dầu. Các tế bào mô mềm chứa tinh thể inulin hình cầu và nhiều tinh thể calci oxalat hình kim;

Bột

Bột màu nâu. Soi kính hiển vi thấy: Có nhiều tinh thể calci oxalat hình kim rất nhỏ, dài 5 µm đến 30 µm trong tế bào mô mềm. Đa số sợi hợp thành bó, sợi dài hình thoi, đường kính tới 40 µm, màng tế bào dày, hơi hóa gỗ. Khá nhiều tế bào đá, đôi khi kết nối với tế bào bản, có nhiều cạnh, hình gần tròn hoặc gần hình chữ nhật, đường kính 20 µm đến 80 µm, thành rất dày. Thường thấy inulin có các nếp nhăn thành tia trên bề mặt.

Định tính

A. Ngâm 1 g bột dược liệu trong 5 ml ether (TT) khoảng 5 phút, lọc. Nhỏ vài giọt dịch lọc trên một đĩa sứ men trắng. Sau khi ether bốc hơi hết, thêm 1 đến 2 giọt dung dịch mới pha gồm 2 g *p*-dimethylamino-benzaldehyd (TT), 3,3 ml acid sulfuric (TT) và 0,4 ml nước; sau đó thêm 2 giọt ethanol 96 % (TT) xuất hiện màu đỏ hồng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ether dầu hòa (60 °C đến 90 °C) - ethyl acetat (20 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 2 ml *n*-hexan (TT), siêu âm 15 phút, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Thương truật (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Khai triển sắc ký xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch 5 % *p*-dimethylaminobenzaldehyd trong ethanol có chứa 10 % acid sulfuric (TT), sấy bản mỏng tới khi hiện rõ vết. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu. Tiến hành như sau:

Dung dịch thử: Lấy 3,0 g bột dược liệu vào 1 chén bằng sứ hoặc thạch anh, có nắp đậy. Đốt dần dần để than hóa hoàn toàn. Để nguội, thêm 1 ml hỗn hợp (pha trước khi dùng) gồm 1 thể tích acid nitric (TT) và 3 thể tích acid hydrocloric (TT), bốc hơi tới khô trên cách thủy. Làm ẩm cân bằng 3 giọt acid hydrocloric (TT), thêm 10 ml nước nóng và làm ẩm trong 2 phút. Sau đó thêm 1 giọt dung dịch phenolphthalein (TT), thêm từng giọt amoniac đậm đặc (TT) cho đến khi dung dịch xuất hiện màu đỏ nhạt, thêm 2 ml acid acetic loãng (TT), lọc (nếu cần), rửa phễu và cân bằng 10 ml nước. Chuyển dịch lọc và dịch rửa vào ống thử Nessler, thêm nước vừa đủ 50 ml.

Dung dịch đối chiếu: Bốc hơi đến khô 1 ml hỗn hợp (pha trước khi dùng) gồm 1 thể tích acid nitric (TT) và 3 thể tích acid hydrocloric (TT). Sau đó tiến hành như chỉ dẫn với dung dịch thử, sau đó thêm 3,0 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu và thêm nước vừa đủ 50 ml.

Cách tiến hành: Thêm 1 giọt dung dịch natri sulfid (TT) vào dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, lắc mạnh, để yên 5 phút. So sánh màu của 2 ống nghiệm

bằng cách nhìn dọc ống hoặc quan sát trên nền trắng. Dung dịch thử không được đậm màu hơn dung dịch đối chiếu.

Arsen

Không được quá 5 phần triệu.

Lấy 0,4 g bột dược liệu vào 1 chén bằng sứ hoặc thạch anh có nắp đậy, thêm 10 ml dung dịch *magnesi nitrat hexahydrat* (TT) 2 % trong *ethanol* 96 % (TT), đốt hết ethanol, nung nóng từ từ cho đến khi than hóa, nếu chưa than hóa hoàn toàn thì làm ẩm cần bằng một lượng nhỏ *acid nitric* (TT), tiếp tục nung tương tự như trên cho đến khi than hóa hoàn toàn. Để nguội, thêm 3 ml *acid hydrochloric* (TT), hòa tan cần bằng cách đun nóng trên cách thủy. Lấy dung dịch này tiếp tục tiến hành thử theo phương pháp A, Phụ lục 9.4.2, dùng 2 ml dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu.

Định lượng

Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 50,0 g bột dược liệu, bình cầu thể tích 1000 ml, thêm từ 250 ml đến 500 ml nước, 2 ml xylen vào ống hứng tinh dầu, nhiệt độ sôi ở 130 °C đến 150 °C. Cát trong 5 giờ.

Dược liệu phải chứa ít nhất 1,4 % tinh dầu, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân, thu. Đào lấy thân rễ, loại bỏ đất cát và rễ con, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Thương truyệt đã loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô.

Thương truyệt sao cám: Cho cám vào chảo, đun nóng, đợi khi khói bốc lên, cho phiến thương truyệt vào, sao cho tới khi mặt ngoài chuyển thành màu vàng thẫm, lấy ra, sàng bỏ cám. Cứ 100 kg Thương truyệt phiến dùng 10 kg cám gạo.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Tân, khổ, ôn. Vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Kiện tỳ táo thấp, khu phong trừ thấp, phát hãn giải biểu. Chủ trị: Thấp trệ ở trung tiêu (bụng đầy buồn nôn, ăn không ngon), phong thấp do hàn thấp là chính, ngoại cảm phong hàn và thấp (người nặng nề uể oải, không có mồ hôi).

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

TÍA TÔ (Lá)

Folium Perillae frutescens

Tô diệp

Lá (hoặc có lẫn nhánh non) đã phơi hay sấy khô của cây Tía tô [*Perilla frutescens* (L.) Britt.], họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Phiến lá thường nhàu nát, cuộn lại và gãy, lá được dàn phẳng có hình trứng, dài 4 cm đến 11 cm, rộng 2,5 cm đến 9 cm, chóp lá nhọn, gốc lá tròn hoặc vát nhọn, rộng, mép lá có răng tròn. Hai mặt lá đều có màu tía hoặc mặt trên màu lục, mặt dưới màu tía có lông màu trắng xám mọc rải rác và nhiều vẩy tuyến dạng điểm. Cuống lá dài 2 cm đến 7 cm, màu tía hoặc lục tía. Thê chất giòn. Cành non có đường kính 2 mm đến 5 mm, màu lục tía, mặt cắt ngang có túy ở giữa. Mùi thơm, vị hơi cay.

Vi phẫu

Gân lá: Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào dẹt và nhỏ. Có nhiều lỗ khí ở biểu bì dưới. Lông tiết nằm trong những chỗ lõm của biểu bì. Lông che chở đa bào một dãy. Mô dày nằm ở những chỗ lõm của gân giữa. Mô mềm gồm các tế bào thành mỏng. Bó libe-gỗ hình cung ở giữa gân lá gồm có phần gỗ ở phía trên, phần libe ở phía dưới.

Phiến lá: Gồm có mô mềm giậu chứa chất màu vàng, chiếm 2/3 phiến lá ở phía trên, mô mềm khuyết mỏng ở phía dưới.

Bột

Màu nâu, mùi thơm. Soi kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào, bề mặt lấm tấm. Lông tiết đầu đa bào, cuống rất ngắn. Mảnh biểu bì trên và dưới gồm tế bào có thành ngoằn ngoèo, có lỗ khí và lông tiết. Phiến lá gồm tế bào chứa diệp lục, có tinh thể calci oxalat hình cầu gai nhỏ. Mảnh mạch mạng, mạch vòng, mạch xoắn.

Định tính

A. Phản ứng trên bề mặt lá: Nhỏ lên mặt dưới lá vài giọt *dung dịch acid hydrochloric* 10 % (TT) xuất hiện màu đỏ. Nhỏ lên mặt dưới lá vài giọt *dung dịch kali hydroxyd* 5 % (TT) sẽ xuất hiện màu lục sáng, sau đó chuyển thành màu lục vàng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: Dùng lớp trên của hỗn hợp dung môi gồm *ether dầu hỏa* (60 °C đến 90 °C) - *ethyl acetat* (19 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,7 g bột thô dược liệu vào bình cầu, thêm 250 ml nước, trộn đều, lấp bình vào dụng cụ cất tinh dầu, tiến hành cất tinh dầu (Phụ lục 12.7), thêm 1,5 ml *ether dầu hỏa* (60 °C đến 90 °C) (TT) thay cho xylen, đun sôi nhẹ trong 2 giờ, để nguội, tách riêng phần ether dầu hỏa làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,7 g bột thô lá Tía tô, tiến hành chiết tương tự như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun dung dịch 2,4-dinitrophenylhydrazin trong acid hydrocloric (TT), để yên cho đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Dư lượng thuốc bảo vệ thực vật

Benzen hexaclorid (BHC): Không quá 0,2 phần triệu (Phụ lục 12.17).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 3,150 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ, khi cành lá Tía tô mọc xum xuê, bỏ lá sâu, để riêng lá hoặc nhánh non, loại bỏ tạp chất, phơi trong bóng râm hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất và cành già, phun nước cho mềm, thái vụn, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi mát, khô.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào các kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị

Giải biểu tán hàn, hành khí hòa vị, lý khí an thai. Chủ trị: Cảm mạo phong hàn, ho, khí suyễn buồn nôn, có thai nôn mửa, chữa trúng độc của cá.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 5 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Ho khan, ho ra máu, người âm hư hàn nhiệt, hoặc nóng trong, mồ hôi ra nhiều và không phải ngoại cảm phong hàn không nên dùng.

TÍA TÔ (Quả)

Fructus Perillae frutescensis

Tô tử

Quả chín già phơi khô của cây Tía tô [*Perilla frutescens* (L.) Britt.], họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Quả hình trứng hoặc gần hình cầu, đường kính khoảng 1,5 mm. Bên ngoài màu nâu xám và tía thẫm, có các gợn hình vân lưới hơi lồi. Gốc quả hơi nhọn, có chấm sọc màu trắng xám của cuống quả. Vỏ quả mỏng, giòn, dễ vỡ. Hạt màu trắng ngà, vỏ hạt có màng, trong hạt có hai lá mầm màu trắng ngà, có dầu. Hạt có mùi thơm nhẹ khi vỡ, vị hơi cay.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, khi quả chín già, cắt cả cây Tía tô, đập lấy quả, loại tạp chất, phơi khô.

Bào chế

Tô tử: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi khô.

Tô tử sao: Lấy tử tô tử cho vào chảo, sao nhỏ lửa đến khi có mùi thơm hoặc nổ đều, lấy ra để nguội, khi dùng giã dập.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị

Giáng khí, tiêu đờm, bình suyễn, nhuận trường. Chủ trị: Đờm suyễn, ho khí nghịch, táo bón.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

TÍA TÔ (Thân)

Caulis Perillae frutescensis

Tô ngạnh

Thân đã phơi hay sấy khô của cây Tía tô [*Perilla frutescens* (L.) Britt.], họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Dược liệu hình trụ vuông, bốn góc tù, dài ngắn không đều nhau, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu nâu hơi tía hoặc tía thẫm, bốn mặt có rãnh và vân dọc nhỏ, mấu hơi phình to, có các vết sọc cạnh và vết sọc lá mọc đối. Thê nhẹ, chất cứng, mặt gãy có dạng phiến xẻ. Phiến thái dày 2 mm đến 5 mm, thường giống hình thoi dài, vát, gỗ màu vàng nhạt, tia

tùy nhỏ và dày đặc, tỏa ra từ trung tâm; tùy màu trắng mềm và thưa thớt. Mùi thơm nhẹ, vị nhạt.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Dư lượng thuốc bảo vệ thực vật

Benzen hexaclorid (BHC): Không quá 0,2 phần triệu (Phụ lục 12.17).

Chế biến

Mùa thu, sau khi quả chín, cắt phần trên mặt đất, bỏ cành con và lá, loại bỏ tạp chất, phơi khô, hoặc thái khúc hay phiến, rồi phơi khô.

Bào chế

Thân Tía tô khô chưa thái, loại bỏ tạp chất, nhúng vào nước, vớt ra, ủ mềm, thái khúc hoặc phiến dày, phơi khô.

Bảo quản

Đề nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào các kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị

Lý khí, khoan trung, chỉ thống, an thai. Chủ trị: Khí uất vùng ngực cơ hoành bĩ tức, thượng vị đau, ợ hơi, nôn mửa, động thai.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 5 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

TIỀN HỒ (RỄ)

Radix Peucedani

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Tiền hồ (*Peucedanum decursivum* Maxim), hoặc cây Tiền hồ hoa trắng (*Peucedanum praeruptorum* Dunn.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Rễ Tiền hồ hoa trắng: Dược liệu hình trụ không đều hoặc hình chóp, hơi vắn, phần đầu rễ to, phần dưới thường phân nhánh và nhỏ dần; dài 3 cm đến 15 cm, đường kính 1 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu nâu đen hoặc vàng xám. Đầu rễ thường có vết sẹo của gốc thân. Có nhiều vân ngang xếp theo vòng ở phần trên của rễ, ở phần dưới có những rãnh dọc hoặc nếp nhăn dọc và các nốt ngang. Thê chất cứng, dễ bẻ gãy, vết gãy không phẳng, màu trắng hay vàng nhạt. Mặt cắt ở vỏ rải rác có nhiều đốm màu vàng nâu, tầng phát sinh libe gỗ là một vòng màu nâu có thể quan sát thấy bằng mắt thường; có nhiều tia tỏa ra từ vùng tâm của rễ. Mùi thơm, vị hơi đắng và cay.

Rễ Tiền hồ hoa tím: Tương tự rễ Tiền hồ hoa trắng, đôi khi có những vết của gốc thân còn sót lại, ở đầu rễ có vết tích của bẹ lá dạng màng. Mặt bẻ màu trắng, các tia xuyên tâm không thấy rõ.

Vị phẫu

Rễ: Có thiết diện hơi tròn. Ngoài cùng là lớp bần khá dày, hay bị bong tróc từng mảng. Kế đến là lục bì gồm các tế bào hình chữ nhật xếp xuyên tâm, chứa nhiều tinh bột. Lớp lục bì ở rễ già dày hơn ở rễ non. Mô mềm vỏ khá dày (chiếm khoảng một nửa bán kính rễ), gồm các tế bào thành mỏng, gần như tròn, rải rác có các ống tiết ly bào với các tế bào bao quanh ống tiết còn nguyên vẹn, bên trong chứa tinh dầu dưới dạng giọt tròn màu vàng nhạt hay vàng nâu. Libe và gỗ cấp 2 bị nhiều tia tùy (gồm 4 đến 20 hàng tế bào) cắt thành từng cụm. Tia tùy chạy dài ra đến tận mô mềm vỏ gần sát lớp bần. Lớp libe cấp 2 gồm các tế bào thành mỏng xen kẽ với các tế bào thành khá dày tụ thành đám. Ở rễ già, libe hóa sợi từng đám lan rộng đến gần sát lớp bần. Trong libe cũng có nhiều ống tiết như ở mô mềm vỏ. Gỗ cấp 2 gồm một số mạch thiết diện hơi tròn xen lẫn với mô mềm gỗ thành còn chưa hóa gỗ. Ở rễ già, mô mềm gỗ hóa sợi thành từng đám rải rác trong vùng tùy.

Bột

Bột màu nâu, có ít xơ, mùi thơm.

Mảnh bần; mảnh mô mềm chứa tinh bột; mảnh ống tiết bị vỡ; mảnh mạch vạch, mạch xoắn, mạch mạng; sợi thành dày, khoang hẹp có ống trao đổi; hạt tinh bột rời hay tụ thành đám.

Định tính

A. Đun hồi lưu 5 g bột dược liệu với 30 ml *ethanol* 96 % (TT) trong 10 phút. Lọc, lấy dịch lọc tiến hành các phản ứng sau:

Lấy 2 ml dịch lọc, nhỏ vài giọt *dung dịch acid hydrochloric* 10 % (TT): Dung dịch có tủa đục. Nhỏ tiếp khoảng 10 giọt *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT) cho đến pH kiềm: Dung dịch trở nên trong và tăng màu vàng.

Nhỏ từ từ dịch chiết lên giấy lọc thành 2 vết, mỗi vết gồm 2 đến 3 giọt dịch lọc, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, sẽ hiện lên vết huỳnh quang màu xanh da trời nhạt. Thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT) lên 2 vết, che miếng kim loại lên một trong 2 vết, soi lại dưới ánh sáng tử ngoại, sau vài phút mở miếng kim loại ra. Lúc đầu, vết không che sẽ có huỳnh quang sáng hơn vết bị che, sau vài giây, cả hai vết sẽ sáng như nhau.

Lấy 3 ml dịch lọc bốc hơi đến cạn. Hòa tan cặn trong 1 ml *acid acetic* băng (TT) thêm 5 giọt *acetyl clorid* (TT) và một vài tinh thể *kẽm clorid* (TT), đun trong cách thủy 1 phút đến 2 phút, màu đỏ sẽ xuất hiện.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat - aceton* (9 : 1 : 0,5).

Dung dịch thử: Đun hồi lưu 5 g bột dược liệu với 30 ml *ethanol* 96 % (TT) trong 10 phút. Lọc, lấy

khoảng 10 ml dịch lọc cô cách thủy đến cạn (hoặc lấy phần dịch lọc còn lại ở mực định tính A để cô). Hòa tan cần trong khoảng 3 ml *cloroform* (TT) dùng làm dung dịch thử.

Dùng dịch đối chiếu: Dùng 5 g bột Tiêu hồi (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Sau đó phun dung dịch *kali hydroxyd* 5 % trong *ethanol* (TT) rồi sấy nhẹ trong 5 phút. Phun tiếp dung dịch *vanilin* 1 % - *acid sulfuric* (TT). Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp ngâm lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 50 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa đông và đầu mùa xuân năm sau khi thân cây và lá đã héo hoặc trước khi cây có hoa, đào lấy rễ, loại bỏ rễ con, rửa sạch và phơi khô hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bào chế

Tiền hồ phiến: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát và phơi khô.

Mật tiền hồ (chế mật): Hòa loãng Mật ong trong lượng ít nước sôi, trộn đều Tiền hồ và Mật ong, ủ qua cho Mật ong thấm đều hết, cho vào chảo sao nhỏ lửa đến khi sờ không dính tay, lấy ra, để nguội. Dùng 2 kg Mật ong cho 10 kg Tiền hồ.

Bảo quản

Nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, tân, vị hàn. Quy vào các kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị

Tán phong thanh nhiệt, giáng khí, hóa đàm. Chủ trị: Ho và suyễn do phế thực nhiệt có nhiều đàm màu hơi vàng và dính, ho do ngoại cảm phong nhiệt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, thường phối hợp với các thuốc khác.

TIÊU HỒI (Quả)

Fructus Foeniculi

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Tiêu hồi (*Foeniculum vulgare* Mill.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Quả bế đôi, hình trụ, hơi cong, dài 4 mm đến 8 mm, đường kính 1,5 mm đến 2,5 mm. Mặt ngoài màu xanh hơi vàng hoặc vàng nhạt, hơi thuôn về phía 2 đầu, đỉnh mang chân vòi nhụy nhô ra, màu nâu vàng, đôi khi có cuống quả nhỏ ở phần đáy. Mỗi mặt lưng mang 5 gân nổi rõ và chỗ tiếp giáp giữa 2 nửa quả phẳng và rộng. Mặt cắt ngang hình 5 cạnh, bốn cạnh của mặt lưng gần đều nhau. Mùi thơm đặc trưng, vị hơi ngọt và cay.

Bột

Bột màu vàng bản, mùi thơm. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh vỏ quả ngoài gồm tế bào hình đa giác. Mảnh vỏ quả giữa gồm tế bào có lỗ nằm xiên. Mảnh vỏ quả trong gồm nhiều tế bào dài không đều. Mảnh nội nhũ gồm các tế bào thành dày chứa hạt aleuron và các tinh thể calci oxalat nhỏ. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai nằm rải rác. Mảnh mô mềm có ống tiết dài màu vàng hơi nâu. Mảnh mô mềm màu vàng nhạt gồm các tế bào hình đa giác thành mỏng.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*, dùng dung dịch *natri carboxymethylcellulose* 0,2 % đến 0,5 % để tráng bản mỏng.

Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa* (60 °C đến 90 °C) - *ethyl acetat* (17 : 2,5).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ether ethylic* (TT), siêu âm 10 phút, lọc và bốc hơi dịch lọc đến cạn. Hòa cần trong 1 ml *cloroform* (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan aldehyd anisic chuẩn trong *ethanol* (TT) để được dung dịch chứa 1 μ g/ml hoặc nếu không có aldehyd anisic thì dùng 2 g bột Tiêu hồi (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 8 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch *dinitrophenylhydrazin* (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết màu đỏ cam tương ứng với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu nếu dùng dược liệu chuẩn để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

B. Cân 3 g dược liệu, thêm 10 ml *ethanol* 80 % (TT), ngâm 3 giờ, lắc, lọc, lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 0,5 ml nước, dung dịch đục trắng như sữa.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 3 giọt dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT), dung dịch có màu vàng sẫm.

C. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại, mặt cắt ngang của quả, bột quả có màu trắng sáng.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g dược liệu đã nghiền nhỏ.

Tạp chất

Không quá 4,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Cho 30 g dược liệu đã tán thành bột thô vào bình cầu có dung tích 500 ml của bộ dụng cụ dùng định lượng tinh dầu trong dược liệu. Thêm 200 ml nước, tiến hành cất trong 3 giờ.

Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 1,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, khi quả chín cắt cây về phơi khô trong bóng râm, đập lấy quả, loại bỏ tạp chất.

Bào chế

Diêm tiêu hồi (Chế muối): Hòa muối vào một lượng nước thích hợp, trộn đều với dược liệu, để cho ngấm hết nước muối, cho vào nồi sao nhỏ lửa đến màu hơi vàng, lấy ra để nguội. 10 kg Tiêu hồi cần 0,2 kg muối.

Bảo quản

Để nơi khô, mát.

Tính vị, qui kinh

Tân, ôn. Vào các kinh can, thận, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Tán hàn, chỉ thống, hành khí, hòa vị. Chủ trị: Hàn sán, bụng dưới đau, hành kinh đau, thượng vị đau trướng, kém ăn, nôn mửa tiêu chảy.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các dạng thuốc khác.

Kiêng kỵ

Âm hư hỏa vượng, người có thực nhiệt không dùng.

TINH DẦU BẠC HÀ

Oleum Menthae arvensis

Dược lấy từ các bộ phận trên mặt đất của cây Bạc hà (*Mentha arvensis* L.), họ Bạc hà (Lamiaceae), bằng phương pháp cất kéo hơi nước và đã được làm khan nước.

Tính chất

Chất lỏng, trong, không màu hoặc vàng nhạt, mùi thơm đặc biệt, vị cay mát.

Rất dễ tan trong ethanol, cloroform và ether, tan trong 2 đến 3 thể tích ethanol 70 %.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 0,890 đến 0,922 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ

Ở 20 °C: Từ 1,455 đến 1,465 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng

Ở 20 °C: Từ -40° đến -20° (Phụ lục 6.4).

Định tính

Nhỏ 1 giọt tinh dầu lên lỗ khay sứ, thêm 3 giọt đến 5 giọt acid sulfuric (TT) và vài tinh thể vanilin (TT), sẽ xuất hiện màu đỏ cam, thêm 1 giọt nước sẽ chuyển sang màu tím.

Kiểm tra các chất pha trộn trong tinh dầu

A. Ethanol: Lấy 5 ml tinh dầu cho vào ống nghiệm. Thêm từ từ từng giọt nước cất (không lắc). Phần tinh dầu ở trên phải trong suốt, không được đục.

B. Nhựa và dầu béo: Nhỏ vài giọt tinh dầu lên giấy lọc, hơi nóng giấy lọc trên bếp điện, giấy phải không có vết dầu loang.

C. Dầu hỏa, dầu mazut: Trong một ống đong đựng khoảng 80 ml ethanol 80 % (TT), nhỏ từng giọt (không lắc) cho đến hết 10 ml tinh dầu, dung dịch phải trong, không có phần không tan nổi ở trên.

Định lượng

A. Định lượng menthol este hóa

Cân chính xác khoảng 3 g tinh dầu, thêm 6 ml ethanol 96 % (TT) và trung hòa bằng dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CD), chỉ thị là dung dịch phenolphthalein (TT). Thêm 20 ml dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CD) và đun nóng 60 phút trong cách thủy có lắp ống sinh hàn ngược. Để nguội, pha loãng với 50 ml nước cất mới đun sôi để nguội, rồi chuẩn độ bằng dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CD) cho đến khi mất màu. Song song tiến hành một mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml dung dịch kali hydroxyd 0,5 N (CD) tương ứng với 0,09915 g menthyl acetat (C₁₂H₂₂O₂). Hàm lượng phần trăm menthol este của tinh dầu được tính theo công thức:

$$\frac{(V_1 - V_2) \times 9,915}{G}$$

Trong đó:

V₁ là số ml dung dịch kali hydroxyd 0,5 N (CD) dùng để xà phòng hóa tinh dầu dùng trong mẫu thử;

V₂ là số ml dung dịch kali hydroxyd 0,5 N (CD) dùng trong mẫu trắng;

G là khối lượng tinh dầu lấy để thử (g).

B. Định lượng menthol toàn phần.

Lấy chính xác 5 ml tinh dầu cho vào một bình acetyl hóa, thêm 5 g *anhydrid acetic* (TT) và 1 g *natri acetat khan* (TT), đun sôi 60 phút. Sau khi nguội, thêm 20 ml nước cất, vừa đun vừa lắc 15 phút trên cách thủy. Để nguội, chuyển vào bình gạn, loại bỏ lớp nước, rửa lớp tinh dầu 2 lần, mỗi lần 20 ml *dung dịch natri clorid 10 %* (TT). Sau đó, rửa lại nhiều lần bằng nước cất, mỗi lần 10 ml, cho đến khi nước rửa có phản ứng trung tính với giấy quỳ. Làm khan tinh dầu bằng *natri sulfat khan* (TT). Lọc.

Cân chính xác khoảng 1,5 g tinh dầu đã acetyl hóa, hòa tan trong 3 ml *ethanol 96 %* (TT) và trung hòa bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol* (CĐ), với chỉ thị màu là *dung dịch phenolphthalein* (TT). Sau đó thêm 20 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol* (CĐ). Đun trong cách thủy 60 phút với ống sinh hàn ngược. Để nguội, thêm 50 ml nước cất mới đun sôi để nguội, rồi chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N* (CĐ) cho đến khi mất màu.

1 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N* (CĐ) tương ứng với 0,07814 g menthol ($C_{10}H_{22}O$). Hàm lượng phần trăm menthol toàn phần trong tinh dầu được tính theo công thức:

$$\frac{V \times 7,814}{G - (0,021 \times V)}$$

Trong đó:

V là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N* (CĐ) dùng để xà phòng hóa tinh dầu đã acetyl hóa;

G là khối lượng tinh dầu đã acetyl hóa (g).

Tinh dầu Bạch hà phải chứa ít nhất 55,0 % menthol toàn phần và từ 3,0 % đến 9,0 % menthol este hóa, biểu thị bằng menthyl acetat.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, để ở nơi mát.

TINH DẦU BẠCH ĐÀN

Oleum Eucalypti

Lấy từ lá của nhiều loài Bạch đàn (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, *Eucalyptus exserta* F. Muell.) và một số loài Bạch đàn khác, họ Sim (*Myrtaceae*), bằng cách cắt kéo hơi nước, sau đó tinh chế bằng phương pháp cất lại.

Tính chất

Chất lỏng trong, không màu hay màu vàng nhạt, mùi đặc biệt, vị cay sau mát. Dễ tan trong ethanol 70 %.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 0,900 đến 0,925 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ

Ở 20 °C: Từ 1,454 đến 1,470 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực

Ở 20 °C: Từ 0° đến +10° (Phụ lục 6.4).

Độ tan trong ethanol

Tan trong 5 thể tích *ethanol 70 %* (TT) (Phụ lục 12.8).

Aldehyd

Cho 10 ml tinh dầu vào bình nón nút mài dung tích 100 ml. Thêm vào đó 5 ml *toluen* (TT) và 4 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid trong ethanol 60 %* (TT). Lắc mạnh và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 %* (TT) đến khi màu đỏ chuyển sang màu vàng. Tiếp tục lắc và chuẩn độ tới khi lớp dưới có màu vàng bền vững sau khi đã lắc mạnh 2 phút và để yên cho tách lớp; phản ứng xảy ra hoàn toàn trong khoảng 15 phút. Lặp lại quy trình định lượng như trên với 10 ml tinh dầu khác, dùng dung dịch đã chuẩn độ sơ bộ ở trên thêm 0,5 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 %* (CĐ) làm chuẩn màu cho điểm kết thúc định lượng. Lượng *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 %* (CĐ) dùng cho chuẩn độ không được quá 2,0 ml.

Định lượng

Dùng bình Cassia có dung tích 100 ml, ở cổ có khắc ngắn 4 ml và chia độ từng 0,1 ml. Cho vào bình 3,0 ml tinh dầu và 75 ml *dung dịch resorcin* (TT). Lắc hỗn hợp trong 15 phút. Để yên cho tách thành 2 lớp, cho thêm *dung dịch resorcin* (TT) vào bình sao cho lớp tinh dầu nằm vào khoảng chia độ ở cổ bình. Sau 1 giờ, đọc thể tích tinh dầu không kết hợp với resorcin. Nhiệt độ của tinh dầu lấy để thử và nhiệt độ của phần tinh dầu không kết hợp với *resorcin* (TT) lúc đọc kết quả phải giống nhau.

Hàm lượng phần trăm *cineol* trong tinh dầu tính theo công thức:

$$X\% = \frac{(b - a) \times 100}{b}$$

Trong đó:

a là thể tích tinh dầu đọc được (ml);

b là thể tích mẫu thử (ml);

Tinh dầu Bạch đàn phải có ít nhất 60 % (tt/tt) *cineol* ($C_{10}H_{18}O$).

Bảo quản

Tránh ánh sáng, đựng đầy lọ, đầy nút kín, để nơi râm, mát.

TINH DẦU HỒI

Oleum Anisi stellati

Lấy từ quả chín đã phơi khô của cây Hồi (*Illicium verum* Hook.f.), họ Hồi (*Illiciaceae*), bằng cách cắt kéo hơi nước.

Tính chất

Chất lỏng không màu hay màu vàng nhạt, mùi hơi đặc biệt, vị ngọt. Kết tinh khi để lạnh.

Tan trong 1 đến 3 thể tích ethanol 90 % (dung dịch trong suốt hoặc hơi đục), trong ether, ether dầu hỏa.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 0,978 đến 0,988 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ

Ở 20 °C: Từ 1,552 đến 1,560 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng

Ở 20 °C: Từ -2° đến 1° (Phụ lục 6.4).

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung dịch thử: Dung dịch tinh dầu 0,1 % trong cloroform (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch anethol 0,1 % trong cloroform (TT) hoặc dung dịch tinh dầu Hồi mới cất 0,1 % trong cloroform (TT).

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - ether (95 : 5).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch mới pha vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử sẽ xuất hiện một vết lớn nhất màu đỏ, sau chuyển sang màu tím (với R_f khoảng 0,49 đến 0,50) cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của anethol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng tinh dầu Hồi mới cất để làm dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Điểm đông đặc: Tinh dầu phải có điểm đông đặc không dưới 15 °C (Phụ lục 6.6) tương ứng với hàm lượng từ 85 % đến 95 % anethol ($C_{10}H_{12}O$).

Bảo quản

Đựng trong bình đóng đầy, nút kín. Để chỗ mát, tránh ánh sáng.

Chú ý

Nếu bị đục hoặc kết tinh, đun nóng trên cách thủy và lắc trước khi dùng.

TINH DẦU HƯƠNG NHU TRẮNG

Oleum Ocimi gratissimi

Lấy từ cành mang lá, hoa, quả của cây Hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum* L.), họ Bạc hà (Lamiaceae), bằng cách cất kéo hơi nước.

Tính chất

Chất lỏng trong, màu vàng nhạt. Mùi thơm đặc trưng, vị cay, nóng, nếm có cảm giác tê lưỡi.

Dễ tan trong ethanol, ether hoặc acid acetic băng. Thực tế không tan trong nước.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 1,030 đến 1,050 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ

Ở 20 °C: Từ 1,530 đến 1,540 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng

Ở 20 °C: Từ - 15,6° đến 20,2° (Phụ lục 6.4).

Định tính

A. Hòa tan 2 giọt tinh dầu trong 5 ml ethanol 90 % (TT), thêm 2 giọt dung dịch *sắt (III) clorid (TT)* 3 %, dung dịch phải có màu xanh rêu thẫm.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Benzen - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Dung dịch tinh dầu 0,1 % trong cloroform (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dùng eugenol chuẩn hoặc tinh dầu cất từ Hương nhu trắng mẫu chuẩn làm dung dịch đối chiếu với nồng độ tương đương dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 20 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng, triển khai sắc ký được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch *sắt (III) clorid (TT)* 3 %. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử xuất hiện vết màu nâu sẫm với giá trị R_f khoảng 0,81 - 0,82 tương ứng với vết eugenol, hoặc dung dịch thử và dung dịch đối chiếu xuất hiện các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f .

Các phenol tan trong nước

Lấy 1 ml tinh dầu, thêm 20 ml nước nóng, lắc đều, để nguội. Lọc qua giấy lọc ẩm. Thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* vào dịch lọc, không được có màu xanh lam hoặc đỏ tía ngoại trừ một màu xanh lục xám không bền.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu.

Lấy 1 g tinh dầu để chuẩn bị dung dịch thử. Dùng 1,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* để chuẩn bị mẫu đối chiếu. Cách tiến hành: Xem chuyên luận "Tinh dầu quế".

Định lượng

Lấy một lượng chính xác 5,0 ml tinh dầu vào một bình Cassia 100 ml. Thêm 75 ml *dung dịch kali hydroxyd 5 % (TT)*, lắc trong 5 phút. Đun nóng trên cách thủy trong 10 phút, thỉnh thoảng lắc. Để nguội đến khi 2 lớp chất lỏng tách ra, thêm từ từ *dung dịch kali hydroxyd 5 % (TT)* đến khi lớp tinh dầu không phản ứng dâng lên tới phần chia độ ở cổ bình. Quay tròn và vỗ nhẹ bình để các giọt tinh dầu bám vào thành bình nổi lên. Sau khi để yên từ 12 giờ đến 24 giờ, xác định thể tích tinh dầu không phản ứng [a (ml)].

Hàm lượng phần trăm eugenol toàn phần trong tinh dầu được tính theo công thức:

$$\frac{(5 - a) \times 100}{5}$$

Tinh dầu phải chứa ít nhất 60 % (tt/tt) eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$) toàn phần.

Bảo quản

Đựng trong bình nút kín, đóng đầy. Để nơi khô, mát, tránh ánh sáng.

TINH DẦU LONG NÃO

Oleum Cinnamomi camphorae

Lấy từ gỗ và lá của cây Long não [*Cinnamomum camphora* (L.) Presl. = *Laurus camphora* L.], họ Long não (Lauraceae), bằng cách cất kéo hơi nước.

Tính chất

Chất lỏng không màu hay màu vàng nhạt, mùi thơm đặc biệt của long não.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 0,923 đến 0,930 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ

Ở 20 °C: Từ 1,461 đến 1,470 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng

Ở 20 °C: Từ +17° đến +22° (Phụ lục 6.4).

Kiểm tra các chất pha trộn trong tinh dầu

A. Ethanol: Lấy 1 ml tinh dầu cho vào ống nghiệm, đập bằng nút bông xốp, ở giữa bông có tinh thể *fuchsin* (TT), rồi đun nóng tinh dầu, nếu có ethanol sẽ làm bông chuyển sang màu đỏ.

B. Dầu béo: Nhỏ vài giọt tinh dầu lên giấy lọc, hơi nóng giấy lọc, giấy phải không có vết dầu loang.

C. Dầu mỡ: Lấy 1 ml tinh dầu cho vào ống đong 10 ml chia vạch, cho tiếp 9 ml *ethanol* 80 % (TT). Dung dịch phải trong suốt, không vẩn đục.

Định lượng

Trong một bình cầu 300 ml có nút mài, cân chính xác khoảng 0,45 g tinh dầu và hòa tan trong 15 ml *ethanol* không có *aldehyd* (TT). Thêm từ từ 80 ml *dung dịch* 2,4 dinitrophenylhydrazin trong *acid hydrocloric* (TT). Lắp ống sinh hàn ngược, đun trên cách thủy 4 giờ. Để nguội, thêm 100 ml *dung dịch acid sulfuric* 2 % (TT). Để yên 24 giờ ở chỗ tối. Lọc lấy tủa trên một phễu thủy tinh xốp đã cân trước. Tráng bình cầu 2 lần (mỗi lần với 10 ml dịch lọc) để lấy hết tủa. Rửa tủa và bình 6 lần, mỗi lần với 10 ml nước. Sấy phễu thủy tinh xốp chứa tủa trong tủ sấy ở 80 °C trong một giờ. Để nguội trong bình hút ẩm, rồi cân tủa 2,4-dinitro-phenyl hydrazone thu được.

1 g tủa tương ứng với 0,458 g camphor ($C_{10}H_{16}O$).

Hàm lượng phần trăm camphor trong tinh dầu được tính bằng công thức:

$$\frac{(a \times 45,8)}{b}$$

Trong đó:

a, là khối lượng tủa thu được (g);

b là khối lượng tinh dầu lấy để thử (g).

Tinh dầu phải chứa ít nhất 35,0 % camphor.

Bảo quản

Đựng trong lọ thủy tinh nút kín. Để chỗ mát, tránh ánh sáng.

TINH DẦU QUẾ

Oleum Cinnamomi

Lấy từ vỏ thân hoặc vỏ cành Quế (*Cinnamomum cassia* Presl. = *Cinnamomum aromaticum* Ne) hoặc một số loài Quế khác (*Cinnamomum* spp.), họ Long não (Lauraceae), bằng cách cất kéo hơi nước.

Tính chất

Chất lỏng trong, màu vàng đến nâu đỏ (chuyển màu dần theo thời gian). Mùi thơm, vị cay nóng rất đặc trưng. Dễ tan trong *ethanol* 70 % và *acid acetic* khan.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 1,040 đến 1,072 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ

Ở 20 °C: Từ 1,590 đến 1,610 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng

Ở 20 °C: Từ -1° đến +1° (Phụ lục 6.4).

Định tính

A. Lấy 4 giọt tinh dầu trộn với 4 giọt *acid nitric* (TT) ở nhiệt độ dưới 5 °C, xuất hiện tinh thể trắng hoặc vàng sáng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel* G.

Dung môi khai triển: *Cyclohexan* - *ethyl acetat* (9 : 1).

Dung dịch thử: Dung dịch tinh dầu 0,1 % trong *cloroform* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch tinh dầu Quế 0,1 % trong *cloroform* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch* 2,4-dinitrophenyl hydrazin (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc (màu da cam) và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Rosin

Trộn 1,0 ml tinh dầu quế với 5 ml *ethanol* 95 % (TT), sau đó thêm 3 ml *dung dịch* *chì acetat* bão hòa *ethanol* mới pha chế. Không được có tủa xuất hiện.

Kim loại nặng

Không được quá 40 phần triệu.

Dung dịch thử: Lấy 1,0 ml chế phẩm vào 1 chén bằng sứ hoặc thạch anh, có nắp đáy, carbon hóa bằng cách nung nhẹ. Để nguội, thêm 2 ml *acid nitric* (TT) và 5 giọt *acid sulfuric* (TT), đốt nóng cẩn thận cho đến khi hết khói trắng bay ra, than hóa bằng cách nung ở 500 °C đến 600 °C. Để nguội, thêm 2 ml *acid hydrochloric* (TT), bốc hơi tới khô trên cách thủy. Làm ẩm cân bằng 3 giọt *acid hydrochloric* (TT), thêm 10 ml nước nóng và làm ẩm trong 2 phút. Sau đó thêm 1 giọt *dung dịch phenolphthalein* (TT), thêm từng giọt *amoniac đậm đặc* (TT) cho đến khi dung dịch xuất hiện màu hồng nhạt, thêm 2 ml *acid acetic loãng* (TT), lọc nếu cần, rửa phễu và cân bằng 10 ml nước. Chuyển dịch lọc và dịch rửa vào ống thử Nessler, thêm nước vừa đủ 50 ml.

Dung dịch đối chiếu: Bốc hơi hỗn hợp 2 ml *acid nitric* (TT), 5 giọt *acid sulfuric* (TT) và 2 ml *acid hydrochloric* (TT) trên cách thủy, làm ẩm cân bằng 3 giọt *acid hydrochloric* (TT). Sau đó tiến hành như chỉ dẫn với dung dịch thử, sau đó thêm 4,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* và thêm nước vừa đủ 50 ml.

Cách tiến hành: Thêm 1 giọt *dung dịch natri sulfid* (TT1) vào dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, lắc mạnh, để yên 5 phút. So sánh màu của 2 ống nghiệm bằng cách nhìn dọc ống hoặc quan sát trên nền trắng. Dung dịch thử không được đậm màu hơn dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Lấy chính xác 10,0 ml tinh dầu, cho vào bình Cassia 100 ml, thêm 50 ml *dung dịch natri sulfid bão hòa* (TT) mới pha đã trung tính [thêm từng giọt *dung dịch natri bisulfid 30 %* (TT) vào dung dịch natri sulfid cho đến khi trung tính, chỉ thị là *dung dịch phenolphthalein* (TT)], trộn đều. Thêm 2 giọt *dung dịch phenolphthalein* (TT) và đun nóng ngay trong cách thủy, lắc liên tục. Thêm từng giọt *dung dịch natri bisulfid 30 %* (TT) để làm mất màu dung dịch đang đun, thêm vài giọt *phenolphthalein* (TT) nữa và tiếp tục đun trong 15 phút. Khi dung dịch đun mất màu hoàn toàn, lấy bình ra, để nguội ở nhiệt độ phòng; hoặc thêm từng giọt *dung dịch natri bisulfid 30 %* (TT) để làm mất màu đỏ tạo thành khi đun nóng. Làm lại quá trình trên cho đến khi không có màu đỏ trong dung dịch đun, lấy bình ra để nguội và để yên cho tách lớp. Thêm *dung dịch natri sulfid trung tính bão hòa* (TT) cho đến khi lớp tinh dầu nổi lên phần chia vạch ở cổ bình. Để yên 18 giờ cho đến khi phân lớp rõ. Đọc thể tích của lớp tinh dầu đã tách ra (a). Hàm lượng phần trăm của aldehyd cinnamic trong tinh dầu tính theo công thức sau:

$$(10 - a) \times 10$$

Tinh dầu Quế phải chứa ít nhất 85,0 % (tt/tt) aldehyd cinnamic.

Bảo quản

Đựng trong bình nút kín, đóng đầy. Để nơi khô, mát, nhiệt độ không quá 25 °C. Tránh ánh sáng.

TINH DẦU TRÀM

Oleum Cajuputi

Tinh dầu lấy từ lá tươi của cây Tràm gió, còn gọi là cây Chè đồng (*Melaleuca cajuputi* Powell), họ Sim (Myrtaceae), bằng cách cất kéo hơi nước.

Tính chất

Chất lỏng trong, không màu hay màu lục nhạt đến vàng nhạt. Mùi đặc biệt. Tan trong 1 đến 2 thể tích ethanol 80 %.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: từ 0,900 đến 0,925 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ

Ở 20 °C: từ 1,466 đến 1,472 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng

Ở 20 °C: từ -3° đến -1° (Phụ lục 6.4).

Giới hạn aldehyd

Cho 10 ml tinh dầu vào bình nón nút mài dung tích 100 ml. Thêm vào đó 5 ml *toluen* (TT) và 4 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid trong ethanol 60 %* (TT). Lắc mạnh và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 %* (TT) đến khi màu đỏ chuyển sang màu vàng. Tiếp tục lắc và chuẩn độ tới khi lớp dưới có màu vàng bền vững sau khi đã lắc mạnh 2 phút và để yên cho tách lớp; phản ứng xảy ra hoàn toàn trong khoảng 15 phút. Lập lại quy trình định lượng như trên với 10 ml tinh dầu khác, dùng dung dịch đã chuẩn độ sơ bộ ở trên thêm 0,5 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 %* (CD) làm chuẩn màu cho điểm kết thúc định lượng. Lượng *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 %* (CD) dùng cho chuẩn độ không được quá 2,0 ml.

Định tính

A. Cho vào 1 ống nghiệm khô 1 ml tinh dầu (đã làm khan trước bằng *natri sulfat khan* (TT)) và 1 ml *acid phosphoric* (TT). Đặt ống nghiệm vào một cốc nước đá và khuấy kỹ trong vài phút, sẽ thấy một hợp chất cộng được tạo thành có thể chất như kem, màu từ trắng ngà đến đỏ cam tùy theo độ tinh khiết của tinh dầu.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Benzen - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Tinh dầu pha loãng trong *dicloromethan* (TT) với tỷ lệ 1 : 1.

Dung dịch đối chiếu: Cineol pha loãng trong *dicloromethan* (TT) với tỷ lệ 1 : 1.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên cùng một bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun thuốc thử *vanilin - sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 phút đến 10 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết chính có cùng màu và cùng giá trị R_f với vết cineol của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Định lượng theo phương pháp đo điểm đông đặc của hợp chất cộng giữa cineol và O-cresol (Phụ lục 12.5). Hàm lượng cineol ($C_{10}H_{18}O$) trong tinh dầu trầm phải không ít hơn 40,0 %.

Bảo quản

Đựng trong bình nút kín, để chỗ mát, tránh ánh sáng.

TOÀN YẾT

Scorpio

Toàn yết là toàn thân đã chế biến của con Bọ cạp (*Buthus martensii* Karsch), họ Bọ cạp (Buthidae).

Mô tả

Phần đầu ngực và phần bụng trước dẹt, hình trứng dài. Phần bụng sau có hình giống cái đuôi, teo lại và uốn cong. Cơ thể mẫu nguyên vẹn có chiều dài khoảng 6 cm. Phần đầu ngực có màu nâu hơi xanh lục, phần trước phát triển nhô ra 1 đôi chân kim nhỏ, ngắn và 1 đôi chân xúc giác dạng cang cua lớn dài, rộng, phần lưng được che phủ bởi mai giống hình chiếc thang, phần bụng có 4 đôi chân đi mỗi chân có 7 đốt kèm 2 vuốt ở phần cuối. Phần bụng trước bao gồm 7 đốt. Đốt thứ 7 thẫm màu với 5 rãnh xương sống gồ lên ở trên đốt lưng. Mặt lưng có màu nâu hơi xanh lục. Phần bụng sau có màu vàng hơi nâu, có 6 đốt, với các nếp nhăn dọc trên các đốt. Đuôi mang một ngòi châm dạng vuốt sắc và không có cựa gai ở dưới ngòi châm. Mùi hơi hắc, có vị mặn.

Chất chiết được bằng ethanol

Không được dưới 20,0 % (Phụ lục 12.10).

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng, dùng *ethanol* 50 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Toàn yết được bắt vào cuối mùa xuân đến đầu mùa thu. Loại bỏ đất cát, luộc trong nước hoặc nước muối đến cứng. Lấy ra, đặt vào chỗ thoáng gió và làm khô âm can.

Bào chế

Khi dùng loại bỏ tạp chất, rửa sạch và phơi khô.

Bảo quản

Nơi khô mát tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn, có độc. Quy vào kinh can.

Công năng, chủ trị

Trừ kinh phong, giải độc, tán kết. Chủ trị: Trẻ em kinh phong, co giật, uốn ván, đau nhức cơ khớp, đau đầu hay đau nửa đầu, liệt mặt, tràng nhạc.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiểm kỵ

Phong do huyết hư thì không dùng.

TỎI (Căn hành)

Bulbus Allii sativi

Tỏi là lá dự trữ được phơi khô của cây Tỏi (*Allium sativum* L.), họ Hành (Alliaceae).

Mô tả

Tập hợp các lá dự trữ (hành) quen gọi là củ gần hình cầu, đường kính 3 cm đến 5 cm, chứa khoảng 8 đến 20 hành con. Bao xung quanh củ gồm 2 đến 5 lớp lá vẩy trắng mỏng, do các bẹ lá trước tạo thành, gắn vào một đế hình cầu dẹt (thân hành). Các hành con hình trứng, 3 mặt đến 4 mặt, đỉnh nhọn, đế cụt. Mỗi hành con được phủ những lớp lá vẩy trắng và một lớp biểu bì màu trắng hồng dễ tách khỏi phần rắn bên trong. Các hành con xếp thành lớp quanh một sợi dài, đường kính 1 mm đến 3 mm mọc từ giữa đế. Phần rắn bên trong của các hành con chứa nhiều nước, mùi thơm, vị hăng và bền.

Vị phẫu

Bóc các lá vẩy soi dưới kính hiển vi thấy có các dây mạch xoắn song song. Những lá vẩy ngoài cùng có tế bào biểu bì dài, thành dày. Tùy vị trí có thể có các lỗ khí, hoặc mỗi tế bào có chứa một tinh thể hình lăng trụ, đường kính 20 µm đến 50 µm. Tế bào thịt lá thành mỏng, xếp lộn xộn. Biểu bì trong gồm những tế bào thành mỏng. Những lá dự trữ dày có biểu bì thành mỏng, lớp thịt lá gồm những tế bào mô mềm hình dáng khác nhau và các mạch dẫn hình xoắn xếp thành hàng.

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Vào cuối mùa đông đầu mùa xuân lúc cây đã héo tàn lụi, đào lấy các giò hành, rửa sạch đất cát bó thành bó treo lên phơi khô.

Bào chế

Loại bỏ vỏ già, rửa sạch, dùng tươi giã nát hay ngâm trong rượu.

Bảo quản

Nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Quy vào các kinh phế, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Hành khí, ôn trung, tiêu tích trệ, sát trùng, giải độc. Chủ trị: Cúm cúm, ho gà, viêm phế quản, ăn uống tích trệ, thượng vị đau tức do đầy hơi, tiêu chảy mụn nhọt, áp xe viêm tấy, hời trán, trị giun kim.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, phối hợp trong các bài thuốc hoặc giã nát dùng đắp ngoài, hoặc giã nát rồi ngâm rượu, hay thái lát để châm cứu.

Kiêng kỵ

Dùng lâu gây tổn thương can và mắt, phế vị có nhiệt, can, thận có hỏa, khí hư, huyết nhiệt, cước khí (thấp tim), phong bệnh thì cấm dùng.

TÔ MỘC (Gỗ)

Lignum Sappan

Gỗ vang

Gỗ lõi để nguyên hay chẻ nhỏ được phơi hay sấy khô của cây Vang (*Caesalpinia sappan* L.), họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Dược liệu có hình trụ hay nửa trụ tròn, đường kính từ 3 cm đến 12 cm, hay những thanh nhỏ, dài 10 cm hay hơn. Mặt ngoài các miếng lớn có màu đỏ vang đến đỏ nâu, có vết dao dẽo và vết cạnh, thường có khe nứt dọc. Mặt cắt ngang hơi bóng, vòng tuổi thấy rõ rệt (màu da cam), có thể thấy màu nâu tối, có các lỗ nhỏ (mạch gỗ). Dễ tách thành từng mảnh theo thớ gỗ, tùy có lỗ rõ. Các thanh được chẻ nhỏ có màu hồng đỏ, có thể có những chỗ có màu nhạt hay đậm hơn. Chất cứng, nặng, không mùi, vị hơi se.

Vĩ phẫu

Mặt cắt ngang có các tia gồm 1 hàng đến 2 hàng tế bào rộng. Mạch gỗ tròn, đường kính tới 160 μ m, thường chứa chất màu vàng nâu hay nâu đỏ. Sợi gỗ thường có hình nhiều cạnh, thành rất dày. Tế bào mô mềm trong gỗ có thành dày hóa gỗ, một số chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Mô mềm tùy gồm các tế bào hình nhiều cạnh không đều, thành hơi hóa gỗ, có lỗ.

Bột

Màu cam, nhiều mảnh mạch điểm, kích thước thay đổi. Mảnh mô mềm tùy tế bào có thành mỏng, đôi khi thành hơi hóa gỗ, có lỗ thủng. Sợi dài khoảng 400 μ m,

rộng khoảng 12 μ m, thành dày, khoang hẹp, đứng riêng lẻ hay chụm lại thành từng bó. Tia ruột hợp thành góc với bó sợi, tạo thành các ô vuông mảnh mô mềm thành dày hóa gỗ, ít thấy tinh thể calci oxalat.

Định tính

A. Lấy một miếng dược liệu, nhỏ *dung dịch calci hydroxyd bão hòa (TT)* lên bề mặt, xuất hiện màu đỏ thẫm.

B. Lấy 10 g bột dược liệu, thêm 50 ml *nước*, đun cách thủy 30 phút, thỉnh thoảng lắc đều, lọc. Dịch lọc có màu đỏ da cam, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại (365 nm) có ánh lục vàng. Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* xuất hiện màu đỏ thẫm, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, dung dịch có màu xanh lơ. Khi acid hóa dung dịch này bằng *dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT)* sẽ có màu da cam, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại (365 nm) sẽ có ánh lục vàng.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - aceton - acid formic (8 : 4 : 1).

Dung dịch thử: Chiết 1 g bột dược liệu bằng 15 ml *ethanol 95 % (TT)* trong 30 phút trong bể siêu âm. Lọc lấy dịch lọc, cô tới cạn. Hòa lại cạn trong 2 ml *ethanol 95 % (TT)*, được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Tô mộc (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, để khô bản mỏng, phun *dung dịch kali hydroxyd 3% trong methanol (TT)* rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và cùng màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được dưới 8,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 95 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, chặt những cây gỗ già, đẽo bỏ phần gỗ giác trắng, lấy phần gỗ đỏ bên trong, cưa thành khúc và chẻ ra thành mảnh nhỏ, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Cưa thành đoạn dài 3 cm, chẻ thành mảnh nhỏ hay tán thành bột thô.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, qui kinh

Cam, hàn, bình. Quy vào các kinh tâm, can, tỳ.

Công năng, chủ trị

Hành huyết khứ ứ, tiêu viêm chỉ thống. Chủ trị: Thống kinh, bế kinh, sản hậu huyết ứ, đau nhói ngực bụng, sưng đau do sang chấn, nhiệt lý.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc, dạng thuốc sắc, cao thuốc.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai, huyết hư không ứ trệ thì không nên dùng.

TRẠCH TẢ (Thân rễ)***Rhizoma Alismatis***

Thân rễ khô đã cạo sạch vỏ ngoài của cây Trạch tả [*Alisma orientalis* (Sam.) Juzep.] họ Trạch tả (*Alismataceae*).

Mô tả

Thân rễ hình cầu, hình trứng hay hình con quay, dài 2 cm đến 7 cm, đường kính 2 cm đến 6 cm. Mặt ngoài màu trắng hơi vàng hay nâu hơi vàng, có các rãnh nông, dạng vòng không đều ở ngang củ, có nhiều vết sẹo rễ nhỏ dạng bướu, ở đầu thân rễ có vết của thân cây còn sót lại. Chất chắc, mặt bề gãy màu trắng vàng, có tinh bột, nhiều lỗ nhỏ. Mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.

Bột

Màu nâu hơi vàng. Có nhiều hạt tinh bột, hạt tinh bột đơn hình trứng dài, hình cầu hoặc hình bầu dục, đường kính 3 µm đến 14 µm, rốn hạt hình chữ Y, hình khe ngắn hoặc hình chữ V. Hạt tinh bột kép gồm 2 đến 3 hạt đơn. Tế bào mô mềm hình gần tròn có nhiều lỗ hình bầu dục hợp thành các khoảng lỗ trống. Tế bào nội bì có thành lõi lên, uốn lượn, tương đối dày, hóa gỗ, có ống lỗ nhỏ, rải rác. Khoang chứa dầu phân lớn bị vỡ, những khoang còn nguyên vẹn có hình gần tròn, đường kính 54 µm đến 110 µm, đôi khi thấy trong tế bào tiết có giọt dầu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 0,5 % (Phụ lục 9.7).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa đông, khi thân, lá bắt đầu khô héo, lấy thân rễ, rửa sạch, bỏ rễ con và vỏ ngoài, phơi, sấy khô.

Bào chế

Trạch tả: Loại bỏ tạp chất, phân loại to nhỏ, tắm nước, ủ mềm, thái lát dày, phơi hoặc sấy khô.

Diêm trạch tả (Chế muối): Lấy thân rễ Trạch tả đã thái phiến khô, phun nước muối cho ẩm, ủ kỹ, sao nhỏ lửa đến khi mặt ngoài có màu vàng, lấy ra phơi khô. Cứ 100 kg trạch tả dùng 2 kg muối.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn, hàn. Vào các kinh thận, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Lợi tiểu tiện, thanh thấp nhiệt. Chủ trị: Nhiệt lâm tiểu tiện ít, bí, buốt, rát; phù thũng, đầy trướng, tiêu chảy, đàm ẩm.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán.

Kiêng kỵ

Thận hỏa hư, tiểu tiện không cảm, tỳ hư không nên dùng.

TRÀM (Cành, lá)***Ramulus cum folio Melaleuca*****Chè đồng**

Cành mang lá đã phơi hay sấy khô của cây Tràm gió (*Melaleuca cajuputi* Powell), họ Sim (*Myrtaceae*).

Mô tả

Cành màu trắng nhạt, có lông mềm, thường có mang hoa quả ở đoạn giữa cành lá. Lá mọc cách, cuống dài 6 mm đến 8 mm, phiến lá hình mác nhọn, màu xanh lục nhạt hoặc xanh xám, hơi cứng, giòn, dài 6 cm đến 12 cm, rộng 2 cm đến 3 cm, thường có 3 đến 5 gân hình cung chạy dọc theo lá, vò ra có mùi rất thơm, vị hơi cay.

Vì phẫu

Lá: Thiết diện lá thường chỉ hơi lõm ở những chỗ có gân lá. Biểu bì có lớp cutin dày mang nhiều lỗ khí ở cả hai mặt lá và có thể gặp lông che chở ở các lá non. Ở mặt cắt ngang phần gân ở khoảng giữa lá, dưới biểu bì là 3 đến 5 lớp tế bào mô dày tròn cả ở mặt trên và mặt dưới. Bó libe gỗ chồng chéo với vòng libe gần như bao tròn quanh gỗ. Libe là các đám tế bào đa giác nhỏ, bị ép dẹt bởi các mạch gỗ. Phía trên và phía dưới bó libe-gỗ là hai cung sợi mô cứng, có thiết diện gần tròn, khoang rất hẹp. Điểm giữa phía trên của vùng gỗ và đám sợi phía trên libe thường phát triển nối liền nhau nên chia cắt libe thành hai phần tách rời. Sát bên các đám sợi thường có một vòng tế bào mô mềm chứa tinh thể calci oxalat hình khối và hình cầu gai.

Mô mềm giàu ở phiến lá có từ 1 đến 2 lớp tế bào ở cả hai mặt lá. Rải rác trong phần phiến lá còn có: Các tế bào mô cứng hình đa giác, vách khá dày nằm trong vùng mô mềm ở giữa; tinh thể calci oxalat hình khối và hình cầu gai; túi tiết to gần bằng bó libe gỗ chính, nằm trong vùng mô giàu sát biểu bì trên và dưới, chứa đầy tinh dầu màu vàng nhạt. Các bó libe-gỗ lớn cách khoảng đều đặn trong phần phiến lá và có cấu tạo như nhau.

Bột

Bột màu xanh nhạt, khô to, có ít xơ, mùi thơm, vị đắng.

Nhiều sợi thành dày, khoang rộng hay hẹp, thường có kèm tinh thể calci oxalat hình khối ở các tế bào mô mềm xung quanh sợi. Mảnh mô mềm, tế bào thành mỏng, trong có thể chứa tinh thể calci oxalat hình khối và hình cầu gai. Các tế bào mô cứng rất ít, thường đứng riêng rẽ, hình đa giác, thành hơi dày, có ống trao đổi. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai và hình khối rời. Mảnh biểu bì mang lỗ khí kiểu hỗn bào. Lông che chở đơn bào ít. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn, mạch điểm.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào một bình nón có dung tích 200 ml. Thêm 80 ml nước và đun sôi trong 10 phút, lọc, để nguội dịch lọc rồi lắc với 25 ml *ethyl acetat* (TT). Gạn lấy lớp *ethyl acetat*, bốc hơi trên cách thủy cho đến cạn. Hòa tan cần bằng 10 ml *ethanol* 96 % (TT) và chia ra làm 3 phần để thực hiện các phản ứng sau:

Lấy 2 ml dịch chiết, thêm 0,5 ml *acid hydrochloric* (TT) và một ít bột *magnesi* (TT), sau vài giây sẽ xuất hiện màu đỏ hồng.

Lấy 2 ml dịch chiết, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT) sẽ xuất hiện màu vàng cam.

Lấy 2 ml dịch chiết, thêm vài giọt *dung dịch sắt* (III) *clorid* 5 % (TT) sẽ xuất hiện màu xanh đen.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel* G60 F₂₅₄.

Dung môi khai triển: *Benzen* - *ethyl acetat* (9 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,2 g tinh dầu chiết được trong phần định lượng trong 1 ml *ether* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan cineol chuẩn trong *ether* (TT) để được dung dịch có nồng độ 1 %.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin* 2 % trong *acid sulfuric* (TT). Sấy bản mỏng khoảng 5 phút đến 10 phút ở 100 °C.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết (ít nhất 5 vết), trong đó có một vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết cineol của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 6,5 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).

Cho 50 g dược liệu đã được cắt nhỏ vào bình cầu dung tích 500 ml của bộ dụng cụ định lượng tinh dầu trong dược liệu. Thêm 300 ml *nước*, tiến hành cất trong 3 giờ với tốc độ 2,5 ml đến 3,5 ml/phút.

Dược liệu phải chứa ít nhất 1,0 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái cành non có mang lá, rửa sạch, phơi trong râm hoặc sấy nhẹ cho đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào hai kinh phế và tỳ.

Công năng, chủ trị

Phát tán phong hàn, giảm đau, sát trùng. chủ trị: Cảm mạo phong hàn. Dùng ngoài trị viêm da dị ứng, chàm (thấp chần).

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 10 g. Dạng thuốc sắc. Dùng ngoài lượng thích hợp.

Kiêng kỵ

Cơ thể suy nhược, tân dịch khô, táo bón, ho khan không nên dùng.

TRẮC BÁCH DIỆP

Cacumen Platycladi

Trắc bá

Cành non và lá đã phơi hay sấy khô của cây Trắc bá [*Platycladus orientalis* (L.) Franco], họ Hoàng đàn (Cupressaceae).

Mô tả

Dược liệu thường phân thành nhiều nhánh, các cành nhỏ dẹt, phẳng. Các lá hình vẩy nhỏ, xếp đối chéo chữ thập, dính sát vào cành, màu xanh lục thẫm hoặc xanh lục hơi vàng. Chất giòn, dễ gãy. Có mùi thơm nhẹ, vị đắng, chát và hơi cay.

Bột

Màu xanh lục hơi vàng, soi dưới kính hiển vi thấy: Các tế bào biểu bì trên của lá hình chữ nhật, thành hơi dày lên. Tế bào biểu bì dưới hình gần vuông, có nhiều lỗ khí, lõm xuống, các tế bào phụ trợ tương đối lớn, nhìn nghiêng có hình quả tạ. Các tế bào mô mềm chứa các giọt dầu nhỏ. Sợi mảnh dẹt, đường kính khoảng

18 µm. Đôi khi có các quản bào có lỗ viền (tế bào hình ống viền lõm vào).

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel H có dung dịch natri carboxymethylcellulose 0,2 % đến 0,5 % để tráng bản mỏng.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - acid formic (9 : 1 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 50 ml ethanol 70 % (TT) và 3 ml acid hydrocloric (TT), đun sôi hồi lưu 3 giờ, lọc, dịch lọc để chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan quercetin chuẩn trong ethanol 95 % (TT) để được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và 1 µl dung dịch đối chiếu, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch nhôm clorid 1 % trong ethanol (TT) và soi dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch mẫu thử phải có vết phát quang cùng màu, cùng giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ mẫu đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6). Lấy khoảng 1 g dược liệu (đã được tán mịn và cân chính xác), sấy trong tủ sấy ở 100 °C đến 105 °C, áp suất thường đến khối lượng không đổi.

Tạp chất

Không quá 6,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng ethanol 95 % (TT) làm dung môi.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp dung môi gồm methanol - dung dịch kali dihydrophosphat 0,01M - acid acetic băng (40 : 60 : 1,5).

Dung dịch đối chiếu: Cân chính xác một lượng quercitrosid chuẩn hòa tan trong methanol (TT) để được dung dịch có nồng độ 50 µg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu vào bình nón nút mài, thêm chính xác 20,0 ml methanol (TT), cân. Siêu âm 30 phút, để nguội, cân lại

và bổ sung methanol (TT) để có khối lượng ban đầu, lắc kỹ và lọc. Lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký

Cột thép không gỉ (25 cm x 4,6 mm), được nhồi pha tinh C (5 µm) (Cột C18 là thích hợp).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml đến 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành

Tiêm dung dịch chuẩn. Tính số đĩa lý thuyết của cột tính được trên pic của quercitrosid phải không được dưới 1500.

Tiêm riêng biệt dung dịch đối chiếu và dung dịch thử vào máy sắc ký lỏng. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{20}O_{11}$, tính hàm lượng quercitrosid ($C_{21}H_{20}O_{11}$) trong dược liệu.

Dược liệu phải chứa không được ít hơn 0,1 % quercitrosid ($C_{21}H_{20}O_{11}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái vào mùa hạ và thu. Lấy dược liệu về, chặt lấy cành nhỏ và lá, phơi trong râm.

Bào chế

Trắc bách diệp: Loại bỏ tạp chất và cành cứng, đem dùng.

Trắc bách thán: Lấy Trắc bách diệp đã nhặt sạch, cho vào nồi, đun to lửa, sao cho có màu sém nâu bên ngoài và màu sém vàng bên trong (sao tồn tính).

Bảo quản

Để nơi khô mát, đậy kín.

Tính vị, quy kinh

Khô, sáp, hàn. Vào các kinh phế, can tỳ.

Công năng, chủ trị

Lương huyết, chỉ huyết. Chủ trị: Nôn ra máu, chảy máu cam, ho ra máu, đại, tiểu tiện ra máu, băng huyết, rong huyết.

Cách dùng, liều lượng

Ngày uống từ 6 g đến 12 g; dùng ngoài với lượng thích hợp.

TRẦN BÌ

Pericarpium Citri reticulatae perenne

Vỏ quả chín đã phơi hoặc sấy khô và để lâu năm của cây Quýt (*Citrus reticulata* Blanco), họ Cam (Rutaceae).

Mô tả

Vỏ cuốn lại hoặc quăn, dày 0,1 cm đến 0,15 cm, có mảnh còn vết tích của cuống quả. Mặt ngoài màu vàng nâu hay nâu nhạt, có nhiều chấm màu sẫm hơn và lõm xuống (túi tiết). Mặt trong xốp, màu trắng ngà hoặc hồng nhạt, thường lộn ra ngoài. Vỏ nhẹ, giòn, dễ bẻ gãy. Mùi thơm, vị hơi đắng, hơi cay.

Vi phẫu

Vỏ quả ngoài gồm 1 hàng tế bào nhỏ hình vuông, phía ngoài có lớp cutin và lỗ khí. Mô mềm vỏ quả giữa là những tế bào hình chữ nhật, thành mỏng. Rải rác có các tinh thể calci oxalat hình khối, hình quả trám, túi tiết tinh dầu to tròn hay hình trái xoan. Đôi khi nhìn thấy đám libe-gỗ theo chiều dọc. Lớp trong của vỏ quả giữa cấu tạo bởi những tế bào hơi uốn lượn.

Bột

Tế bào vỏ quả ngoài hình nhiều cạnh, màu vàng nhạt, thành hơi dày. Mảnh mô mềm vỏ quả giữa gồm những tế bào thành mỏng, hình chữ nhật. Mảnh mạch vòng, mạch xoắn. Tinh thể calci oxalat hình khối hay hình quả trám.

Định tính

Cho 2 g bột dược liệu vào 1 bình nón 100 ml, thêm 10 ml *ethanol* 96 % (TT), đun sôi hồi lưu trong cách thủy 10 phút. Lọc lấy dịch lọc, chia làm 3 phần và làm các phản ứng sau:

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm một ít bột *magnesi* (TT), 10 giọt *acid hydroclorid* (TT), sau vài phút sẽ thấy xuất hiện màu đỏ.

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT), sẽ thấy xuất hiện màu xanh đen.

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd* 5 % (TT), sẽ thấy xuất hiện màu vàng cam kèm theo một ít tủa.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Tạp chất khác: Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu (qua rây 1,25 mm), cho vào bình Soxhlet, thêm 100 ml *ether* dầu hòa (điểm sôi 30 °C đến 60 °C) (TT), đun hồi lưu trên cách thủy trong 1 giờ và loại bỏ dịch ether. Sau đó chuyển dược liệu sang 1 bình nón 250 ml và chiết tiếp bằng cách đun hồi lưu trên cách thủy với *methanol* (TT) trong 30 phút (50 ml × 3 lần). Gộp các dịch chiết và loại dung môi cho đến cạn. Thêm vào cần 5 ml *nước*, khuấy và để yên 10 phút, lọc qua phễu lọc xốp, tiếp tục rửa bằng *nước* (5 ml × 4 lần) và loại bỏ *nước* rửa. Hòa tan cần trên phễu bằng những lượng nhỏ *dung dịch natri hydroxyd* 0,2 % trong *ethanol* 70 % (TT) cho đến khi dịch lọc không còn màu vàng. Gộp các dịch lọc và thêm *dung dịch natri hydroxyd* 0,2 % trong *ethanol* 70 % (TT) đến thể tích 100 ml trong bình định mức (dung dịch A). Lắc kỹ, lấy chính xác 2 ml dung dịch A, pha loãng

thành 25 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd* 0,2 % trong *ethanol* 70 % (TT), đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 361 nm ± 1 nm. Tính hàm lượng hesperidin (C₂₈H₃₅O₁₅.H₂O) theo A (1,0 %, 1 cm), lấy 160 là giá trị của A (1,0 %, 1 cm) ở 361 nm.

Hàm lượng hesperidin trong vỏ quả không được thấp hơn 3,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Từ mùa đông năm trước đến mùa xuân năm sau, hái quả chín, bóc lấy vỏ phơi hay sấy nhẹ đến khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, tắm nước, ủ mềm, thái sợi, phơi âm can đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, tân, ôn. Vào hai kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị

Lý khí kiện tỳ, hóa đờm ráo thấp. Chủ trị: Bụng đau, đầy trướng, kém ăn, nôn mửa, ỉa lỏng, ho đờm nhiều.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

TRI MẪU (Thân rễ)***Rhizoma Anemarrhenae***

Thân rễ phơi hoặc sấy khô của cây Tri mẫu (*Anemarrhena asphodeloides* Bunge), họ Hành (Liliaceae).

Mô tả

Hình khúc dẹt hoặc hình trụ, hơi cong queo, có khi phân nhánh, dài 3 cm đến 15 cm, đường kính 0,8 cm đến 1,5 cm. Một đầu còn sót lại gốc thân và vết cuống lá màu vàng nhạt. Mặt ngoài có màu vàng nâu đến nâu. Mặt trên của thân rễ có một rãnh lớn và có nhiều đốt vòng xếp sát nhau, trên đốt có nhiều gốc lá còn sót lại màu nâu vàng mọc ra 2 bên, mặt dưới có nếp nhăn và nhiều vết rễ nhỏ hình chấm tròn lõm. Chất cứng, dễ bẻ gãy. Mặt gãy màu vàng nhạt. Mùi nhẹ. Vị hơi ngọt, đắng, nhai có chất nhót.

Định tính

A. Trộn 2 g bột dược liệu với 10 ml *ethanol* (TT), lắc, để lắng 20 phút. Lấy 1 ml dịch trong ở bên trên; có bốc hơi đến cạn. Nhỏ 1 giọt *acid sulfuric* (TT) vào cần, lúc đầu hiện ra màu vàng, sau biến thành màu đỏ, màu tím, rồi màu nâu.

B. Lấy 0,5 g bột dược liệu vào ống nghiệm, thêm 10 ml *nước*, lắc kỹ, một lớp bột bên dưới được tạo thành. Lọc, lấy 2 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT) xuất hiện tủa màu xanh đen.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - ethyl acetat* (11 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ethanol* 95 % (TT), đun hồi lưu 60 phút, để nguội, lọc, lấy dịch lọc, thêm 2 ml *dung dịch acid sulfuric* 5 % (TT), đun hồi lưu trong cách thủy 3 giờ và sau đó cô dịch này đến cạn. Hòa tan cặn trong 2 ml *cloroform* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan sarsasapogenin chuẩn trong *cloroform* (TT) để được dung dịch chứa 5 mg/ml làm dung dịch đối chiếu. Nếu không có sarsasapogenin, lấy 5 g bột Tri mẫu (mẫu chuẩn) rồi chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 7 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai xong, lấy bản mỏng ra phơi khô ngoài không khí. Phun hỗn hợp của *dung dịch vanilin* 8 % trong *ethanol* khan (TT) và *dung dịch acid sulfuric* (0,5 : 5) [pha *dung dịch acid sulfuric*: Lấy 2 ml *nước*, thêm cẩn thận 7 ml *acid sulfuric* (TT), làm lạnh, thêm *nước* vừa đủ 10 ml]. Sấy bản mỏng 5 phút ở 100 °C. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Rễ con, các bộ phận còn lại từ lá chết và các tạp chất khác: Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 8,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.7).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân, thu. Đào lấy thân rễ, rửa sạch, cắt bỏ rễ con, phơi khô.

Bào chế

Tri mẫu: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô, bỏ lông và chất vụn.

Tri mẫu chế muối: Lấy Tri mẫu, rang nhỏ lửa đến khô, lấy ra tắm nước muối, lại sao khô, lấy ra để nguội. Cứ 100 kg Tri mẫu phải dùng 2,8 kg muối.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh ẩm, sâu mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, cam, hàn. Vào các kinh phế, vị, thận.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, tả hỏa, trừ phiền chỉ khát, nhuận táo. Chủ trị: Nhiệt bệnh có sốt cao khát nước, phế thận âm hư có cốt chưng, trào nhiệt; nội nhiệt tiêu khát, ruột ráo táo bón.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Người hư hàn không nên dùng.

TỤC ĐOẠN (RỄ)

Radix Dipsaci

Rễ kế

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Tục đoạn (*Dipsacus japonicus* Miq.), họ Tục đoạn (Dipsacaceae).

Mô tả

Rễ hình trụ, hơi cong queo, đầu trên to, đầu dưới thon nhỏ dần, dài 8 cm đến 20 cm, đường kính 0,4 cm đến 1 cm. Mặt ngoài màu nâu nhạt đến nâu xám, có nhiều nếp nhăn và rãnh dọc, có nhiều lỗ bị nằm ngang và những đoạn rễ còn sót lại. Dễ bẻ gãy, mặt bẻ lõm chôm. Mặt cắt ngang có lớp bản mỏng, tầng sinh libe-gỗ màu nâu, bó libe-gỗ màu nâu nhạt, sắp xếp thành tia tỏa ra.

Vi phẫu

Lớp bản cấu tạo bởi nhiều hàng tế bào, có màng hóa bản. Mô mềm vỏ gồm những tế bào nhỏ, có thành mỏng nhăn nheo, rải rác có nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Libe cấp 2 cấu tạo bởi những tế bào nhỏ, xếp đều đặn thành một vòng tròn. Tầng sinh libe-gỗ. Gỗ cấp 2 cấu tạo bởi những mạch gỗ to, có thành dày, xếp nối tiếp thành từng dãy rời nhau trong mô mềm gỗ. Mô mềm gỗ gồm những tế bào không hóa gỗ. Mô mềm tủy gồm những tế bào có thành dày hóa mô cứng.

Bột

Màu nâu nhạt, mùi thơm, vị đắng sau chát. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đường kính 38 µm đến 50 µm, rải rác ở ngoài hay ở trong tế bào mô mềm hình chữ nhật có thành mỏng. Mảnh bản màu vàng nâu. Nhiều mảnh mạch mạng, mạch chấm, đường kính 3 µm đến 40 µm. Mạch ngăn.

Định tính

A. Dưới ánh sáng tử ngoại, bột Tục đoạn có màu nâu đen.

B. Cho khoảng 2 g bột dược liệu vào một bình nón nút mài dung tích 100 ml, thêm 4 ml *amoniac đậm đặc* (TT), lắc đều, đậy kín và để yên trong 1 giờ. Thêm 30 ml *cloroform* (TT), lắc siêu âm trong 30 phút. Lọc lấy dịch chiết *cloroform*, làm khan bằng *natri sulfat khan* (TT), lọc và bốc hơi trên cách thủy tới khô. Hòa tan cặn trong 5ml *dung dịch acid sulfuric* 10 % (TT).

Dùng dịch chiết này để làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch chiết, thêm 2 giọt thuốc thử *Mayer* (TT) sẽ xuất hiện tủa trắng.

Lấy 1 ml dịch chiết, thêm 2 giọt thuốc thử *Bouchardat* (TT) sẽ xuất hiện tủa nâu.

Lấy 1 ml dịch chiết, thêm 2 giọt thuốc thử *Dragendorff* (TT) sẽ xuất hiện tủa đỏ cam.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat - aceton* (7 : 3 : 0,5).

Dung dịch thử: 1,0 g dược liệu đã thái nhỏ, thêm 20 ml hỗn hợp *ethanol - cloroform* (1 : 2), đun sôi trên cách thủy khoảng 2 phút, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến còn lại 2 ml làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1,0 g Tục đoạn (mẫu chuẩn) đã thái nhỏ, chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch *vanilin - acid sulfuric* (TT), sấy bản mỏng ở 120 °C cho đến khi các vết hiện rõ. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g dược liệu cắt nhỏ.

Tạp chất

Dược liệu còn sót gốc thân: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Dược liệu phải chứa không ít hơn 45,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng nước làm dung môi.

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: *Acetonitril - nước* (30 : 70), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần thiết.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu vào bình nón nút mài, thêm chính xác 25 ml *methanol* (TT), đậy nút bình và cân xác định khối lượng. Lắc siêu âm bình trong 30 phút, để nguội và cân lại khối lượng bình, bổ sung lượng dung môi *methanol* (TT) thiếu hụt, lắc đều và lọc. Hút chính xác 5 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch đối chiếu: Cân chính xác một lượng *asperosaponin VI* chuẩn, hòa tan trong *methanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 1,5 mg/ml. Hút chính xác 1 ml dung dịch trên cho vào bình định mức 10 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm x 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 μ m).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 212 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min đến 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch chuẩn, tính toán số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic chuẩn *asperosaponin VI* phải không được dưới 3000.

Tiêm lần lượt dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{47}H_{46}O_{18}$ của *asperosaponin VI* chuẩn, tính hàm lượng *asperosaponin VI* ($C_{47}H_{46}O_{18}$) trong dược liệu.

Dược liệu phải chứa không dưới 2,0 % *asperosaponin VI* ($C_{47}H_{46}O_{18}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, đào lấy rễ già, rửa sạch, bỏ gốc thân và rễ con, phơi hoặc sấy đến khô ở 50 °C đến 60 °C.

Bào chế

Tục đoạn thái lát: Tục đoạn rửa sạch, ủ mềm, thái thành lát mỏng và phơi hoặc sấy khô.

Tục đoạn chế rượu: Dùng 1 lít rượu cho 10 kg Tục đoạn đã rửa và thái lát. Phun đều rượu vào Tục đoạn và ủ cho thấm đều rượu trong 30 phút đến 1 giờ. Cho Tục đoạn vào chảo và duy trì nhiệt độ vừa phải sao đến khi có màu hơi đen.

Diêm Tục đoạn (chế muối): Dùng 0,2 kg muối cho 10 kg Tục đoạn đã rửa sạch và thái lát. Hòa tan muối vào khoảng 0,5 lít nước. Phun vào Tục đoạn và ủ cho thấm nước muối vào lõi khoảng 30 phút đến 1 giờ. Sấy ở nhiệt độ vừa phải đến khô.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, cam, tân, vị ôn. Quy vào kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Bổ can thận, cường cân cốt, liên xương, an thai. Chủ trị: Thất lưng và đầu gối đau yếu, di tinh, động thai, rong kinh, băng huyết, đới hạ, sang chấn, gãy xương, đứt gân.

Tửu Tục đoạn thường dùng cho người phong thấp, sang chấn.

Diêm Tục đoạn thường dùng cho người đau yếu thất lưng và đầu gối.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người âm hư hỏa vượng.

TỬ UYÊN (RỄ)***Radix et Rhizoma Asteris tatarici***

Rễ và thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Tử uyên (*Aster tataricus* L.f.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Dược liệu là thân rễ và rễ; thân rễ là những khối lớn, nhỏ không đều, đỉnh có vết tích của thân và lá. Chất hơi cứng. Các thân rễ mang nhiều rễ nhỏ, dài 3 cm đến 15 cm, đường kính 0,1 cm đến 0,3 cm, thường tết lại thành bó. Mặt ngoài màu đỏ hơi tía hoặc màu đỏ hơi xám, có vân nhăn dọc. Chất rễ tương đối dai, mềm. Mùi thơm nhẹ, vị ngọt, hơi đắng.

Vị phẫu

Mặt cắt ngang của rễ: Tế bào ngoại bì thường bị khô và đôi khi tróc ra, có chứa sắc tố đỏ hơi tía. Tế bào hạ bì xếp thành một hàng, kéo dài theo hướng tiếp tuyến, một số có chứa sắc tố đỏ hơi tía, thành tế bào bên và bên trong hơi dày lên. Vỏ rộng, có những khoảng gian bào; trong vỏ có 4 đến 6 ống tiết. Nội bì thấy rõ. Trung trụ nhỏ, gỗ hình đa giác, xếp xen kẽ các bó libe. Ở trung tâm thường là ruột.

Thân rễ: Biểu bì mang lông tiết, rải rác trong vỏ có tế bào đá và tế bào mô cứng.

Các tế bào mô mềm của rễ và thân rễ có chứa inulin, đôi khi có chứa cụm calci oxalat.

Định tính

A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml nước, đun trong cách thủy ở 60 °C trong 10 phút, lọc nóng, để nguội. Lấy 2 ml dịch lọc vào ống nghiệm có nút mài, lắc mạnh trong 1 phút, sẽ xuất hiện bọt bền trong 10 phút.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G60F₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *n*-Hexan - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT), đun hồi lưu trên cách thủy trong 30 phút, lọc, để bay hơi dịch lọc còn khoảng 2 ml làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 2 g bột Tử uyên (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT). Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

Tạp chất

Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10).

Dùng 4,0 g dược liệu, chiết bằng ethanol 96 % (TT), gộp các dịch chiết, cô trong cách thủy đến cạn. Sấy cạn ở 100 °C trong 1 giờ.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân và mùa thu, đào lấy rễ và thân rễ, loại thân rễ có mấu và đất cát, tét bó lại, phơi nắng đến khô.

Bào chế

Tử uyên sống: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm nhanh, thái phiến và phơi khô.

Mật Tử uyên (chế mật): Mật ong hòa loãng bằng nước sôi, trộn đều Mật ong với Tử uyên phiến, ủ đến khi mật ong thấm đều, cho vào chảo, sao nhỏ lửa đến khi không dính tay, lấy ra và để nguội. Dùng 2,5 kg mật ong cho 10 kg Tử uyên.

Bảo quản

Nơi khô, mát, tránh nấm mốc.

Tính vị, qui kinh

Cam, khô, ôn. Quy vào kinh phế.

Công năng, chủ trị

Tuyên phế, hóa đàm, chỉ khái. Chủ trị: ho và suyễn mới hoặc lâu ngày kèm nhiều đàm, hư hao.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 5 đến 9 g, phối hợp với các vị thuốc khác.

Chú ý: Không nên dùng nhiều và độc vị, thường phối hợp với Khoản đông hoa, Bách bộ.

TỖ BÀ (LÁ)***Folium Eriobotryae*****Nhót tây, Nhót Nhật Bản**

Lá phơi hoặc sấy khô của cây Tỳ bà [*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.], họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả

Lá hình mác hay hình trứng dài, dài 12 cm đến 30 cm, rộng 4 cm đến 9 cm, chóp lá nhọn, gốc lá hình nêm, mép lá có răng cưa thưa hoặc nguyên về phía gốc lá. Mặt trên lá màu lục xám, màu vàng nâu hoặc màu đỏ nâu, tương đối nhẵn. Mặt dưới lá màu nhạt hơn, có nhiều lông nhung màu vàng, mọc dày. Gân lá hình lông chim, gân giữa lồi lên ở mặt dưới, gân bên có 15 đôi đến 20 đôi. Cuống lá rất ngắn, phủ lông mao màu vàng nâu. Lá dày, chất cứng, giòn, dễ bẻ gãy; không mùi, vị hơi đắng.

Vi phẫu

Tế bào biểu bì trên hình chữ nhật, bên ngoài là lớp cutin dày. Tế bào biểu bì dưới mang nhiều lông che chở đơn bào, thường bị cong, phần nhiều có hình chữ V gần gần giữa lá, lỗ khí nhìn thấy rõ. Mô giậu có 3 đến 4 hàng tế bào, mô khuyết thưa, chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ, đôi khi cụm lại thành từng đám. Bó mạch của gân giữa gần như một vòng tròn. Sợi xếp thành vòng tròn không liên tục, vách hóa gỗ, bao quanh là các tế bào mô mềm có chứa các tinh thể calci oxalat hình lăng trụ hợp thành sợi tinh thể. Các tế bào chứa chất nhầy và các tinh thể calci oxalat hình lăng trụ rải rác trong mô mềm.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G 60F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (5 : 5).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 2 g bột dược liệu, tắm ướt dược liệu bằng dung dịch ammoniac 10 % (TT), khuấy đều, để yên 30 phút. Thêm 20 ml ethyl acetat (TT), đun hồi lưu trên cách thủy trong 10 phút, để nguội, lọc, để bay hơi dịch lọc còn khoảng 2 ml làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 2 g bột Tỷ bà (mẫu chuẩn), chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Dem phun dung dịch vanillin - acid sulfuric (TT). Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi xuất hiện vết. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu sắc và giá trị cùng R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 80 °C, 3 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 3,150 mm: Không quá 5,0 %. (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 10,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng nước làm dung môi.

Chế biến

Thu hái lá quanh năm, phơi gần khô, bó thành những bó nhỏ và phơi khô.

Bào chế

Tỷ bà điệp: Loại bỏ lông nhung, phun nước cho mềm, thái sợi và phơi khô.

Mật Tỷ bà điệp (chế mật): Mật ong hòa loãng bằng nước sôi, trộn đều Mật ong với Tỷ bà điệp thái sợi, ủ cho mật thấm đều, cho vào chảo sao nhỏ lửa đến khi sò không dính tay, lấy ra và để nguội. Dùng 2 kg Mật ong cho 10 kg Tỷ bà điệp.

Bảo quản

Nơi khô, mát.

Tính vị, qui kinh

Khô, vị hàn. Quy vào kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị

Thanh phế nhiệt và vị nhiệt, chỉ khát, chỉ ẩu. Chủ trị: Ho và suyễn do phế nhiệt, sốt và khát do vị nhiệt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiểm kê

Nôn do hư hàn, ho do phong hàn không nên dùng.

TỶ GIẢI (Thân rễ)

Rhizoma Dioscoreae

Miên tỷ giải

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Tỷ giải (*Dioscorea septemloba* Thunb. hoặc *Dioscorea futschauensis* Uline ex R. Kunth), họ Củ nâu (Dioscoreaceae).

Mô tả

Phiến lát không đều, cạnh không đều, kích thước thay đổi, dày 2 mm đến 5 mm. Mặt ngoài màu nâu hơi vàng hoặc đen hơi nâu, có rải rác vết của các rễ nhỏ, dạng hình nón nhô lên. Mặt cắt màu trắng hơi xám đến màu nâu hơi xám, các đốm màu nâu hơi vàng của các bó mạch rải rác. Chất xốp hơi có dạng bọt biển. Mùi nhẹ, không rõ rệt; vị hơi đắng.

Bột

Màu nâu hơi vàng nhạt, nhiều hạt tinh bột. Các hạt tinh bột đơn, hình trứng, hình bầu dục hoặc gần hình cầu, hình tam giác hoặc các loại hình bất định; một số hạt nhọn ở một đầu; một số có nhiều mắt hay mấu, đường kính 10 µm đến 70 µm; rốn hạt là khe hình chữ V, hình điểm, đa số có vân không rõ. Tinh thể calci oxalat hình kim, xếp thành bó, dài 90 µm đến 210 µm. Các tế bào mô mềm hình bầu dục hoặc hình chữ nhật, thành hơi dày, có lỗ rõ rệt. Các tế bào bản màu vàng hơi nâu, hình nhiều cạnh, thành tế bào thẳng.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - acetone (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 50 ml methanol (TT), đun hồi lưu trên cách thủy trong 1 giờ,

lọc và bốc hơi dịch lọc đến cạn khô. Hòa căn này vào 25 ml nước, rửa với 25 ml ether ethylic (TT) rồi bỏ dịch rửa ether. Thêm 2 ml acid hydrocloric (TT) vào dung dịch nước, đun hồi lưu trên cách thủy trong 90 phút rồi để nguội, chuyển vào một bình lắng, chiết 2 lần bằng cách lắc với ether ethylic (TT), mỗi lần 25 ml. Gộp các dịch chiết ether, cất thu hồi dung môi đến cạn khô. Hòa căn trong 1 ml cloroform (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Tỳ giải (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên cùng bản mỏng 10 µl các dung dịch trên. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra, để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch acid phosphomolybdic (TT) rồi sấy ở 105 °C đến khi hiện rõ các vết. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h)

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng ethanol 70 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, mùa đông. Đào lấy thân rễ, loại bỏ các rễ con, rửa sạch, thái phiến, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Khô, bình. Vào các kinh can thận, vị, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Phân thanh trừ trọc, khu phong trừ thấp. Chủ trị: Cao lâm (đái đục), bạch đới quá nhiều; sang độc do thấp nhiệt, đau lưng đầu gối.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người âm hư hỏa vượng, đau lưng do thận hư.

UY LINH TIÊN (RỄ)

Radix et rhizoma Clematidis

Rễ và thân rễ đã phơi khô của cây Uy linh tiên (*Clematis chinensis* Osbeck) và một số loài khác cùng

chi (*Clematis haxapetala* Pall., *Clematis manshurica* Rupr.), họ Hoàng liên (Ranunculaceae).

Mô tả

Clematis chinensis: Thân rễ hình trụ, dài 1,5 cm đến 10 cm, đường kính 0,3 cm đến 1,5 cm, mặt ngoài màu vàng hơi nhạt, gốc thân còn sót lại ở đỉnh, phần dưới thân rễ mang nhiều rễ nhỏ. Chất tương đối bền, dai, mặt bề có xơ sợi.

Rễ hình trụ thon hơi cong, dài 7 cm đến 15 cm, đường kính 1 mm đến 3 mm, mặt ngoài màu nâu đen, có vân dọc nhỏ, đôi khi vỏ ngoài thoái hóa rơi rụng, để lộ ra gỗ màu vàng nhạt. Chất cứng và giòn, dễ gãy, vết gãy có phần vỏ tương đối rộng, gỗ màu hơi vàng, hơi vuông, thường có khe nứt giữa phần vỏ và phần gỗ. Mùi nhẹ, vị nhạt.

Clematis haxapetala: Thân rễ ngắn, hình trụ, dài 1 cm đến 4 cm, đường kính 0,5 cm đến 2,5 cm. Rễ dài 4 cm đến 20 cm, đường kính 0,1 cm đến 0,2 cm, mặt ngoài màu nâu đến nâu đen, phần gỗ ở mặt gãy hình hơi tròn. Vị mặn.

Clematis manshurica: Thân rễ hình trụ, dài 1 cm đến 11 cm, đường kính 0,5 cm đến 2,5 cm. Rễ tương đối dày đặc, dài 5 cm đến 23 cm, đường kính 0,1 cm đến 0,4 cm, mặt ngoài màu nâu đen, phần gỗ ở mặt gãy hình hơi tròn. Vị cay.

Vĩ phẫu

Clematis chinensis: Thành ngoài tế bào ngoại bì dày lên, màu nâu đen. Vỏ rộng, có tế bào mô mềm, ngoại bì kéo dài ra theo đường tiếp tuyến, nội bì thấy rõ. Phía ngoài libe thường có các bó sợi và các tế bào đá, đường kính sợi 18 µm đến 43 µm. Tầng phát sinh thấy rõ, phần gỗ hoàn toàn hóa gỗ. Tế bào mô mềm chứa các hạt tinh bột.

Clematis haxapetala: Tế bào ngoại bì đa số kéo dài theo hướng xuyên tâm và 1 đến 2 hàng tế bào nằm kề bên có thành hơi dày, phần phía ngoài libe không có bó sợi và tế bào đá.

Clematis manshurica: Các tế bào ngoại bì xếp kéo dài theo hướng xuyên tâm, trong rễ già các tế bào này xếp hơi kéo dài theo đường tiếp tuyến. Đôi khi phần phía ngoài của libe có các bó sợi và tế bào đá, đường kính sợi 20 µm đến 32 µm.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 15,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng ethanol 95 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu. Đào lấy rễ, loại bỏ thân, lá, rửa sạch, phơi khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất và thân còn sót lại, rửa sạch, ủ cho mềm, cắt khúc, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Tân, hàn, ôn. Vào kinh bàng quang.

Công năng, chủ trị

Khu phong, trừ thấp, thông kinh lạc, chỉ thống. Chủ trị: Phong tê thấp các khớp chi, gân mạch co rút khó cử động, dân gian dùng chữa hộng hóc xương cá.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

Kiểm kê

Huyết hư gây gân co rút, không phong thấp thực tà thì không dùng.

VÀNG ĐẰNG (Thân)

Caulis Coscinii fenestrati

Thân đã phơi hoặc sấy khô của cây Vàng đắng [*Coscinium fenestratum* (Gaertn.) Colebr., Syn. *Menispermum fenestratum* Gaertn.], họ Tiết dê (Menispermaceae).

Mô tả

Thân hình trụ tròn, đường kính 2 cm trở lên, gần thẳng hoặc hơi cong, đôi khi có bướu phình to. Mặt ngoài màu vàng đất hoặc nâu, có khi loang lổ, nhiều vết nhăn dọc, nông, đôi khi có vết sẹo tròn do vết tích của cành con. Mặt cắt ngang để lộ lớp vỏ mỏng, vòng gỗ dày chiếm khoảng 4/5 đường kính thân, màu vàng rơm, có tia hình nan hoa bánh xe, lỗ chỗ nhiều chấm nhỏ (mạch gỗ). Chất cứng khó bẻ, không mùi, vị đắng.

Vi phẫu

Lớp bản tế bào hình chữ nhật dẹt, xếp đều đặn. Mô mềm vỏ rải rác có nhiều đám tế bào mô cứng, thành dày, có ống trao đổi. Đám sợi đứng trước libe (cách vòng mô cứng), vòng mô cứng ngoài liên tục, bao lên đầu các đám libe hình bán nguyệt. Tầng sinh gỗ. Gỗ cấp 2, mạch gỗ tròn to, tế bào mô mềm gỗ thành dày. Tia tùy rộng. Vòng mô cứng trong liên tục gồm tế bào thành dày có vân đồng tâm, trong tùy rải rác có tế bào mô cứng riêng lẻ.

Bột

Mảnh mạch mạng, mạch điểm, có nhiều tế bào mô cứng màu vàng tươi hình thoi, hình nhiều cạnh, hình

chữ nhật thành dày khoang rộng hay hẹp. Sợi có thành dày, ống trao đổi rõ hoặc không có. Hạt tinh bột hình chuông đứng riêng lẻ hay kép đôi, kép ba, đường kính 8 µm đến 10 µm. Tinh thể calci oxalat hình que nhỏ, dài khoảng 8 µm rải rác trong mô mềm, đôi khi có tinh thể calci oxalat hình lăng trụ trong khoang tế bào mô cứng.

Định tính

A. Lấy 0,10 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml nước ngâm khoảng 2 giờ, lọc lấy 2 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm khác, nhỏ thêm 1 ml acid sulfuric (TT), để nguội, nhỏ từ từ theo thành ống 1 ml nước brom bão hòa (TT), ở giữa hai lớp dung dịch xuất hiện một vòng đỏ sẫm.

B. Lấy 0,10 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm 1 ml ethanol 90 % (TT), ngâm 10 phút đến 15 phút, lấy 1 đến 2 giọt dịch ethanol này nhỏ lên bản kính, hơi nóng nhẹ đến gần khô, thêm 1 giọt acid hydrocloric (TT), đặt lá kính, để yên 5 phút đến 10 phút, soi kính hiển vi thấy nhiều tinh thể hình kim màu vàng riêng lẻ và xếp thành bó.

C. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, bột dược liệu phát quang màu vàng sáng.

D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: n-Butanol - acid acetic - nước (7 : 1 : 2).

Dung dịch thử. Lấy 0,10 g bột dược liệu, thêm 5 ml ethanol 90 % (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 30 phút. Lọc, được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan berberin clorid vào ethanol 90 % (TT) để được dung dịch có nồng độ 0,1 %.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun lên bản mỏng thuốc thử Dragendorff (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết màu đỏ cam và cùng giá trị R_f với vết berberin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Dược liệu bị biến màu: Không quá 2,0 %.

Tỉ lệ thân đường kính dưới 2 cm: Không quá 2,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp gồm Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,1% (50 : 50), thêm vào mỗi 100 ml hỗn hợp 0,1 g natri dodecylsulfonat (TT).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng berberin clorid chuẩn trong pha động để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,1 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,1 g bột dược liệu (qua rây 710) vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml pha động, lắc siêu âm trong 40 phút, để nguội, thêm pha động đến vạch, lắc đều, lọc.

Điều kiện sắc ký

Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại khả kiến đặt ở bước sóng 265 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 - 1,5 ml/min.

Cách tiến hành

Tiêm 5 µl dung dịch chuẩn vào hệ thống sắc ký, tiến hành sắc ký theo điều kiện đã mô tả, số đĩa lý thuyết của cột sắc ký tính theo pic berberin clorid không được thấp hơn 4000.

Tiêm riêng biệt 5 µl dung dịch chuẩn và 5 - 20 µl dung dịch thử (dùng thể tích tiêm thích hợp sao cho diện tích pic berberin trong sắc ký đồ của dung dịch thử tương ứng với dung dịch chuẩn), tiến hành sắc ký theo điều kiện đã mô tả, ghi nhận sắc ký đồ. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và dựa vào nồng độ của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng berberin clorid trong dược liệu.

Hàm lượng berberin chứa trong dược liệu khô không được ít hơn 1,5 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái quanh năm, cạo vỏ, cắt thành đoạn dài 10 cm đến 13 cm, phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ từ 50 °C đến 60 °C.

Bào chế

Rửa sạch, thái thành lát mỏng, phơi, hoặc sấy khô ở nhiệt độ từ 50 °C đến 60 °C. Có thể dùng để tán bột và chiết xuất.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khô, hàn. Vào kinh tỳ, vị, can, đờm, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, giải độc, sát trùng, lợi thấp, lợi mật. Chủ trị: Viêm ruột, ỉa chảy, viêm túi mật, viêm gan.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 16 g, dạng bột thuốc hay thuốc sắc.

VIỄN CHÍ (RỄ)

Radix Polygalae

Rễ phơi hay sấy khô của cây Viễn chí lá nhỏ (*Polygala tenuifolia* Willd.) và cây Viễn chí Xiberi tức viễn chí lá trứng (*Polygala sibirica* L.), họ Viễn chí (Polygalaceae).

Mô tả

Rễ đã bỏ lõi gỗ hình ống hoặc từng mảnh, thường cong queo, dài 5 cm đến 15 cm, đường kính 0,3 cm đến 0,8 cm, đầu rễ có khi còn sót phần gốc thân, mặt ngoài màu xám hoặc xám tro, có những nếp nhăn và đường nứt ngang, các vết nhăn dọc nhỏ, vết rễ nhánh như núm nhỏ. Mặt cắt ngang có lớp vỏ màu nâu nhạt, ruột rỗng (đã bỏ gỗ). Đối với rễ chưa bỏ lõi gỗ, khi cắt ngang thấy lớp gỗ trắng xám và có chỗ rách. Lớp vỏ dễ tách khỏi gỗ. Vị đắng, hơi cay, kích thích khi nhấm.

Vi phẫu

Rễ đã bỏ lõi gỗ: Lớp bản khoảng 10 hàng tế bào. Tế bào mô mềm vỏ chứa nhiều giọt dầu, đôi khi chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Trong mô mềm có những chỗ rách ngang. Tế bào libe nhỏ nhăn nheo, ở gần tầng phát sinh gỗ có nhiều chỗ rách nằm theo hướng xuyên tâm. Rễ chưa bỏ lõi có phần gỗ tạo bởi vòng ống mạch, sợi gỗ và mô mềm gỗ. Tia ruột gồm 1 đến 3 dãy tế bào.

Bột

Bột màu nâu nhạt. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bản màu vàng nâu nhạt. Nhiều mảnh mô mềm tế bào dài hoặc hơi tròn chứa nhiều giọt dầu. Có những giọt dầu đứng riêng lẻ. Mảnh ống mạch, mạch vạch, đôi khi kèm theo sợi gỗ. Nếu bỏ hết lõi gỗ thì không thấy mảnh mạch ở bột.

Định tính

A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, cho vào ống có nút mài, thêm 10 ml nước nóng, duy trì nhiệt độ khoảng 10 phút, lắc mạnh trong 1 phút, bột hình thành bên ít nhất 10 phút.

B. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 2 ml anhydrid acetic (TT), lắc mạnh, để lắng 2 phút, lọc. Lấy dịch lọc thêm 1 ml acid sulfuric (TT) để có hai lớp dung dịch phân tách rõ, phần tiếp giáp giữa 2 dung dịch này sẽ hiện ra màu nâu đỏ rồi chuyển dần sang màu lục đen.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Lõi gỗ còn sót lại: Không quá 3,0 %.

Thân lá còn sót lại: Không quá 2,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro không tan trong acid

Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Dùng 4 g bột thô dược liệu, thêm 40 ml *ether dầu hòa* (30 °C đến 60 °C) (TT), đun hồi lưu 1 giờ, lọc và rửa dược liệu bằng *ether dầu hòa* (30 °C đến 60 °C) (TT), loại bỏ dịch ether dầu hòa và làm dược liệu bay hơi kiệt dung môi. Tiếp tục tiến hành xác định chất chiết được trong dược liệu (Phụ lục 12.10), dùng phương pháp chiết nóng, sử dụng *ethanol 70 %* (TT) làm dung môi.

Lượng chất chiết được không được ít hơn 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân, mùa thu, đào lấy rễ Viễn chí, loại bỏ rễ còn và tạp chất, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Lấy rễ Viễn chí, rửa nhanh, ủ mềm, cắt đoạn, phơi hoặc sấy khô.

Viên chí chế: Lấy Cam thảo, thêm nước thích hợp, sắc lấy nước bỏ bã, cho Viễn chí sạch vào đun nhẹ cho hút hết nước sắc Cam thảo, lấy ra phơi hoặc sấy khô. Cứ 100 kg Viễn chí dùng 6 kg Cam thảo.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Khô, tân, ôn. Vào kinh tâm, thận, phế.

Công năng, chủ trị

An thần ích trí, trừ đờm chỉ khái. Chủ trị: Mất ngủ, hay mê, hay quên, hồi hộp, đánh trống ngực, tinh thần hoảng hốt. Ho đờm nhiều. Mụn nhọt, vú sưng đau.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Người viêm loét dạ dày, phụ nữ có thai, người trầm cảm không nên dùng.

VÒNG NEM (Lá)***Folium Erythrinae variegatae***

Lá đã phơi khô của cây Vòng nem (*Erythrina variegata* L. = *Erythrina indica* Lamk.), họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Lá có cuống dài gồm ba lá chét. Mỗi lá chét hình gần như ba cạnh, đầu lá thuôn nhọn, đáy vát tròn, mép lá nguyên, mặt lá nhẵn. Mỗi lá chét dài 6 cm đến 13 cm, rộng 6 cm đến 15 cm. Lá chét giữa thường có chiều rộng lớn hơn chiều dài, lá khô có màu lục xám, nhẵn nhoe, nhàu nát. Thường được cắt bỏ cuống hoặc để cuống dài dưới 1 cm.

Vì phẫu

Phần gân giữa: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một lớp tế bào xếp đều đặn, riêng biểu bì dưới có mang lỗ khí và lông tiết hình trứng, đầu đa bào, chân đơn bào rất ngắn. Sát lớp biểu bì trên và dưới có mô dày. Trong mô mềm rải rác có calci oxalat hình thoi và hình đa giác. Libe-gỗ xếp thành một vòng ở chính giữa gân lá. Vòng mô cứng bao bọc bên ngoài các bó libe-gỗ. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn to, thành mỏng.

Phần phiến lá: Dưới biểu bì trên là mô mềm giậu gồm 2 lớp tế bào dài, dưới là mô mềm khuyết. Tầng quảng có những bó libe-gỗ của gân nhỏ nối liền biểu bì trên và biểu bì dưới, cắt ngang mô mềm giậu và mô mềm khuyết. Rải rác có calci oxalat hình thoi và hình đa giác.

Bột

Mảnh biểu bì trên gồm tế bào nhiều cạnh, ngoằn ngoèo, thành mỏng. Mạch biểu bì dưới có lỗ khí kiểu hạt cà phê và lông tiết hình trứng đầu đa bào (gồm 4 đến 6 tế bào xếp chồng lên nhau), chân đơn bào rất ngắn, mảnh gân lá tế bào hình chữ nhật thành mỏng, có chứa calci oxalat hình thoi và hình đa giác. Mạch mô mềm giậu, bó sợi thành hơi dày. Mạch mạch mạng, mạch xoắn.

Định tính

Lấy 2 g bột dược liệu cho vào bình nón dung tích 50 ml, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc* (TT), rồi cho vào bình 15 ml đến 20 ml *cloroform* (TT), lắc nhẹ, đặt trên cách thủy sôi trong 2 phút đến 3 phút, lọc vào bình gạn qua giấy lọc đã được thấm ẩm bằng *cloroform* (TT). Lắc 2 lần, mỗi lần với 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N* (TT). Để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, gạn lấy lớp acid. Gộp dịch chiết acid rồi chia vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat* (TT), xuất hiện tủa nâu.

Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer* (TT), xuất hiện tủa vàng nhạt.

Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff* (TT), xuất hiện tủa vàng cam.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 2,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng

Không quá 10 phần triệu Pb; 0,5 phần triệu Cd; 1 phần triệu Hg; 5 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu cho vào bình nón 250 ml, thêm 100 ml *ethanol* 96 % (TT), đun hồi lưu trong cách thủy trong 30 phút. Lọc qua bông. Làm lại như trên vài lần cho đến hết alcaloid (dùng thuốc thử Dragendorff để kiểm tra). Gộp toàn bộ dịch chiết, bốc hơi dung môi đến cạn. Hòa tan cần với *dung dịch acid sulfuric* 2 % (TT) (3 lần, mỗi lần 10 ml). Lọc dung dịch acid này qua bông vào bình lắng gạn, rửa bông với một ít *dung dịch acid sulfuric* 2 % (TT). Gộp dịch chiết và dịch rửa. Kiểm hóa dịch acid này bằng *amoniac đậm đặc* (TT) đến pH 10. Sau đó chiết bằng *cloroform* (TT) 5 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp toàn bộ dịch chiết cloroform, làm khan nước bằng *natri sulfat khan* (TT), lọc vào chén cân đã sấy khô và cân bì trước, rửa natri sulfat bằng 5 ml *cloroform* (TT) rồi lọc vào chén cân, đem bốc hơi cloroform trên cách thủy đến cạn. Sấy ở 100 °C đến khối lượng không đổi và đem cân. Hàm lượng alcaloid toàn phần ít nhất là 0,15 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân, khi trời khô ráo, cắt lấy lá bánh tẻ không bị sâu hại, phơi âm can hoặc sấy nhẹ (ở 40 °C đến 50 °C) đến khô.

Bảo quản

Nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Khô, bình. Quy vào kinh tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị

An thần, sát trùng. Chủ trị: Mất ngủ (uống), mụn nhọt, loét, trĩ, lậu (đắp ngoài).

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 6 g, phối hợp trong các bài thuốc.

XÀ SÀNG (Quả)***Fructus Cnidii*****Giàn sàng**

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Xà sàng (*Cnidium monnieri* L.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Quả đóng với hai phân quả dính nhau ở một mặt tạo thành hình trứng nhỏ, có khía lồi; dài 2 mm đến 4 mm, đường kính 1 mm đến 2 mm. Mặt ngoài màu vàng nhạt hoặc vàng sẫm. Đỉnh có hai vôi mảnh, dài khoảng 2 mm đến 4 mm. Mỗi phân quả có 5 khía lồi nhô cao xen kẽ với 4 rãnh khá sâu, trông giống như quả có cánh; giữa là một hạt hình trứng. Mặt tiếp xúc giữa hai phân quả là mặt phẳng, có 2 đường chỉ dọc nổi lên màu nâu. Mặt cắt ngang qua tâm của quả nguyên vẹn gồm hai phần là hai phân quả dính liền

nhau. Nếu vết cắt không ở ngay giữa thì hai phân quả có thể tách rời. Mỗi phân quả có thể nhìn thấy 6 vết tròn nhỏ tương ứng với 6 ống tiết. Hạt nhỏ, màu nâu xám, có dầu. Quả có mùi thơm, vị cay.

Vi phẫu

Quả: Vỏ quả ngoài là một lớp gồm các tế bào hình chữ nhật nhỏ, thành mỏng, có cutin hơi răng cưa ở mặt ngoài. Kế đến là 1 đến 2 lớp tế bào mô mềm hình chữ nhật. Vùng mô mềm tương ứng với cạnh lồi có bó libe gỗ nhỏ gồm libe và gỗ liền nhau, rải rác có tinh thể calci oxalat hình khối nhỏ. Xung quanh bó libe gỗ, các tế bào của vùng vỏ quả giữa có một phần hóa mô cứng, nhưng thành tế bào khá mỏng, có cấu tạo giống như mạch mạng. Vỏ quả trong là một lớp tế bào tạo thành vòng liên tục, hơi uốn lượn mập mô, thành tế bào khá dày. Ở mặt tiếp giáp của hai phân quả, mỗi bên có hai ống tiết, bốn ống tiết còn lại nằm trong mô mềm của vỏ quả giữa, bên dưới bốn rãnh sâu. Ống tiết kiểu ly bào với các tế bào xung quanh còn khá nguyên vẹn, bên trong chứa tinh dầu dưới dạng giọt tròn màu vàng. Ở vùng giữa mặt tiếp hợp, chỗ hạt dính vào, mỗi bên phân quả có một bó libe gỗ nhỏ (sống noãn) gồm gỗ ở giữa, bao quanh là libe.

Hạt: Vỏ hạt gồm một vòng tế bào mô mềm hình chữ nhật, thành mỏng, xếp khít nhau theo hướng xuyên tâm. Bên trong là nội nhũ gồm các tế bào hình đa giác, thành mỏng, chứa đầy dầu béo.

Bột

Bột có màu vàng nâu, mùi thơm, vị cay. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh vỏ quả gồm các tế bào hình chữ nhật hay đa giác, thành mỏng, chứa chất có màu vàng, mảnh ống tiết bị vỡ, mảnh mô cứng gồm các tế bào hình chữ nhật hay đa giác có thành tế bào cấu tạo như mạch mạng, mảnh mạch vạch, mạch xoắn nhỏ và hiếm, mảnh nội nhũ chứa nhiều giọt dầu béo to nhỏ không đều, tinh thể calci oxalat hình khối.

Định tính

A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol* 96 % (TT), đun hồi lưu trong cách thủy 10 phút. Lọc, lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:

Dịch lọc đem quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm, có huỳnh quang màu đỏ tía.

Lấy 2 ml dịch lọc, nhỏ vài giọt *dung dịch acid hydrochloric* 10 % (TT). Xuất hiện có tủa đục. Nhỏ tiếp khoảng 10 giọt *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT) cho đến pH kiềm. Dung dịch trở nên trong và tăng màu vàng.

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm đồng thể tích *dung dịch natri carbonat* 3 % (TT), đun nóng nhẹ trong 5 phút. Để nguội, thêm 1 đến 2 giọt hỗn hợp *diazo p-nitroanilin*, xuất hiện màu đỏ anh đào.

Cách pha hỗn hợp *diazo p-nitroanilin*: Hòa tan 0,4 g *p-nitroanilin* (TT) trong một hỗn hợp gồm 20 ml *acid hydrochloric loãng* (TT) và 40 ml nước, làm lạnh ở 15 °C và thêm *dung dịch acid nitric* 10 % (TT) cho

đến khi một giọt dung dịch làm giấy hồ tinh bột có iodid chuyển thành màu xanh.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,3 g bột dược liệu thô, thêm 5 ml ethanol 96 % (TT), siêu âm trong 5 phút, để lắng, lấy phần dịch trong ở trên làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,3 g bột Xà sàng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Sắc đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Lấy khoảng 30 g dược liệu khô, thêm khoảng 200 ml nước; cất trong 3 giờ với tốc độ 2,5 ml/phút đến 3,5 ml/phút.

Dược liệu phải chứa ít nhất 1,0 % tinh dầu (tính theo dược liệu khô kiệt).

Chế biến

Thu hoạch bằng cách nhổ hay cắt cả cây, phơi hoặc sấy nhẹ cho đến khô. Đập lấy quả, loại bỏ tạp chất, phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát, tránh làm mất tinh dầu.

Tính vị, quy kinh

Khô, vị tân, mùi thơm hắc, ôn, hơi có độc. Vào hai kinh thận, tam tiêu.

Công năng, chủ trị

Cường dương, ôn thận, sát trùng, tán hàn. Chủ trị: Liệt dương, di tinh, mộng tinh, hoạt tinh, viêm loét âm đạo, âm hộ ngứa, ra khí hư đỏ lẫn trắng, phong thấp, đau khớp, nhiễm trùng ngoài da.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài: Nấu nước xông, rửa, lượng thích hợp.

Kiêng kỵ

Người thận suy, hỏa bốc hay cường dương không nên dùng.

XÍCH THUỘC (RỄ)

Radix Paeoniae

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Thược dược (*Paeonia lactiflora* Pall.) hoặc cây Xuyên xích thược (*Paeonia veitchii* Lynch.), họ Mẫu đơn (Paeoniaceae).

Mô tả

Dược liệu hình trụ hơi cong, dài 5 cm đến 40 cm, đường kính 0,5 cm đến 3 cm. Mặt ngoài màu nâu, thô, có vân nhăn và rãnh dọc, có vết của rễ con và lỗ vỏ nhô lên theo chiều ngang, đôi khi lớp vỏ ngoài dễ bị tróc. Chất cứng và giòn, dễ bẻ gãy, mặt bẻ màu trắng phấn hoặc hồng, vỏ hẹp, gỗ có vân xuyên tâm rõ, đôi khi có khe nứt. Mùi hơi thơm, vị hơi đắng, chua và chát.

Vi phẫu

Lớp vỏ gồm vài hàng tế bào màu nâu. Tế bào mô mềm của vỏ dạng kéo dài ra theo hướng tiếp tuyến. Libe tương đối hẹp. Tầng phát sinh xếp thành một vòng. Tia gỗ tương đối hẹp, mạch gỗ xếp theo hướng xuyên tâm, kèm theo có các sợi gỗ. Các tế bào mô mềm chứa các cụm tinh thể calci oxalat và hạt tinh bột. Tia gỗ, mạch gỗ, sợi gỗ nằm trong mô gỗ không hóa gỗ.

Định tính

A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml nước, đun sôi và lọc. Lấy dịch lọc, thêm 1 giọt dung dịch sắt (III) clorid (TT), xuất hiện tủa đen hơi xanh da trời.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - methanol - acid formic (40 : 5 : 10 : 0,2).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml ethanol (TT), lắc kỹ trong 5 phút, lọc. Bóc hơi dịch lọc đến khô, hòa tan cần trong 2 ml ethanol (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan chất đối chiếu paeoniflorin trong ethanol 96 % (TT) để được dung dịch có chứa 2 mg paeoniflorin trong 1 ml. Nếu không có paeoniflorin thì dùng 0,5 g bột Xích thược (mẫu chuẩn), tiến hành chiết trong cùng điều kiện như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 4 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký xong, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT), sấy bản mỏng đến khi xuất hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của paeoniflorin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Hoặc nếu dùng dược liệu chuẩn để chuẩn bị dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 6 h).

Tro toàn phần

Không quá 6,5 % (Phụ lục 9.8, dùng 1 g dược liệu, phương pháp 2).

Tro không tan trong acid

Không quá 0,5 % (Phụ lục 9.7).

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu. Tiến hành như sau:

Dung dịch thử: Lấy 3,0 g bột dược liệu vào 1 chén bằng sứ hoặc thạch anh, có nắp đậy, đốt dần dần để than hóa hoàn toàn. Để nguội, thêm 1 ml hỗn hợp (pha trước khi dùng) gồm 1 thể tích *acid nitric* (TT) và 3 thể tích *acid hydrochloric* (TT), bốc hơi tới khô trên cách thủy. Làm ẩm cân bằng 3 giọt *acid hydrochloric* (TT), thêm 10 ml nước nóng và làm ẩm trong 2 phút. Sau đó thêm 1 giọt *dung dịch phenolphthalein* (TT), thêm từng giọt *amoniac đậm đặc* (TT) cho đến khi dung dịch xuất hiện màu đỏ nhạt, thêm 2 ml *acid acetic loãng* (TT), lọc nếu cần, rửa phễu và cân bằng 10 ml nước. Chuyển dịch lọc và dịch rửa vào ống thử Nessler, thêm nước vừa đủ 50 ml.

Dung dịch đối chiếu: Bốc hơi đến khô 1 ml hỗn hợp (pha trước khi dùng) gồm 1 thể tích *acid nitric* (TT) và 3 thể tích *acid hydrochloric* (TT). Sau đó tiến hành như chỉ dẫn với dung dịch thử, sau đó thêm 3,0 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu và thêm nước vừa đủ 50 ml.

Cách tiến hành: Thêm 1 giọt *dung dịch natri sulfid* (TT) vào dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, lắc mạnh, để yên 5 phút. So sánh màu của 2 ống nghiệm bằng cách nhìn dọc ống hoặc quan sát trên nền trắng. Dung dịch thử không được đậm màu hơn dung dịch đối chiếu.

Arsen

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.2, phương pháp A).

Lấy 0,4 g bột dược liệu vào 1 chén bằng sứ hoặc thạch anh có nắp đậy, thêm 10 ml dung dịch *magnesi nitrat hexahydrat* (TT) 2 % trong *ethanol* 96 % (TT), đốt hết ethanol, nung nóng từ từ cho đến khi than hóa, nếu chưa than hóa hoàn toàn thì làm ẩm cân bằng một lượng nhỏ *acid nitric* (TT), tiếp tục nung tương tự như trên cho đến khi than hóa hoàn toàn. Để nguội, thêm 3 ml *acid hydrochloric* (TT), hòa tan cân bằng cách đun nóng trên cách thủy. Lấy dung dịch này tiếp tục tiến hành thử theo phương pháp A, Phụ lục 9.4.2, dùng 2 ml dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu.

Chế biến

Thu hái vào mùa xuân, thu. Đào lấy rễ, loại bỏ thân, rễ con, đất cát, phơi khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, phân loại lớn nhỏ, rửa sạch, ủ mềm, thái phiến mỏng, phơi khô. Dược liệu dạng phiến, hình trụ, đường kính 0,3 cm đến 3 cm, dày 0,3 cm đến 0,5 cm, mặt cắt có màu trắng hơi vàng hoặc màu hồng.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Toan, khổ, vị hàn. Vào kinh can, tỳ.

Công năng, chủ trị

Lương huyết, tán ứ, giảm đau. Chủ trị: Ôn độc phát ban, ỉa máu, chảy máu cam, mắt đỏ sưng đau, can uất, sườn đau, kinh bế, hành kinh đau bụng, hòn cục trong bụng, sưng đau do sang chấn nhọt độc sưng đau.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Không dùng phối hợp với Lê lô.

XUYÊN KHUNG (Thân rễ)***Rhizoma Ligustici wallichii***

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Xuyên khung (*Ligusticum wallichii* Franch.), Họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Thân rễ (quen gọi là củ) có hình khối méo mó, nhiều dạng, đường kính 2 cm đến 5 cm, có nhiều u không đều nổi lên. Bề ngoài màu nâu đất, có nếp nhăn, xù xì, có vết tích của rễ con còn sót lại. Phía đỉnh có vết thân cây cắt đi, hình tròn, lõm xuống. Chất cứng, khó bẻ gãy. Mặt cắt ngang màu vàng nâu. Mùi thơm, vị cay hơi tê.

Vi phẫu

Bản gồm nhiều lớp tế bào. Mô mềm vỏ tế bào hình tròn, rải rác có những đám khuyết to và có nhiều ống tiết màu vàng nâu nhạt, bên trong có chứa chất tiết. Chất tiết này bắt màu đỏ cam, khi nhỏ lên vi phẫu vài giọt *dung dịch Sudan III* (TT). Libe cấp 2 gồm nhiều lớp tế bào. Rải rác có ống tiết. Gỗ cấp 2 gồm các mạch gỗ rải rác. Mô mềm gỗ có tế bào gỗ chưa hóa gỗ (màu hồng). Libe và gỗ không xếp thành vòng liên tục vì bị cắt bởi các tia ruột rộng. Trong mô mềm ruột rải rác có các ống tiết.

Bột

Nhiều hạt tinh bột hình tròn, bầu dục, hình thận đường kính 5 µm đến 16 µm. Rốn hình chấm, hình vạch ngang, hạt đơn hoặc hạt kép. Mảnh bản màu nâu. Mảnh mạch mạng, mạch vạch, mạch thang. Sợi có thành dày. Mảnh tế bào mô mềm có nhiều hạt tinh bột và có ống tiết.

Định tính

A. Lấy 3 g bột dược liệu trộn với 0,5 ml *dung dịch amoniac* 10 % (TT) thêm 20 ml *cloroform* (TT), ngâm 4 giờ, thỉnh thoảng lắc, lọc. Dịch lọc cho vào bình gạn, thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric* 10 % (TT), lắc, để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, gạn lấy dịch acid cho vào 2 ống nghiệm, mỗi ống 1 ml.

Ông 1: Thêm 1 giọt thuốc thử Dragendorff (TT) có tua màu đỏ gạch.

Ông 2: Thêm 1 giọt thuốc thử Bouchardat (TT) có tua đỏ nâu.

B. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT), để yên 10 phút ở nhiệt độ phòng, thỉnh thoảng lắc rồi để yên. Gạn lấy 1 ml dịch chiết ether dầu hỏa đem bốc hơi đến gần khô, thêm 3 giọt dung dịch acid 3,5-dinitro-benzoic 2 % pha trong methanol (TT) và 2 giọt methanol (TT) bão hòa kali hydroxyd (TT), xuất hiện màu tím hồng.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 9,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng ethanol 96 % (TT) làm dung môi.

Chế biến

Lấy thân rễ, cắt bỏ gốc thân, rửa sạch, phơi hoặc sấy nhẹ cho khô. Khi dùng thái phiến, vi sao.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào các kinh can, đờm, tâm bào.

Công năng, chủ trị

Hành khí hoạt huyết, trừ phong, giảm đau. Chủ trị: Điều kinh, nhức đầu, hoa mắt, cảm mạo phong hàn, phong thấp nhức mỏi, ngực bụng đau tức, nhọt độc sưng đau.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, thuốc bột hay rượu thuốc.

Kiêng kỵ

Người âm hư hỏa vượng không nên dùng.

XUYÊN SƠN GIÁP

Squama Manis

Vảy Tê tê, vảy Trút

Vảy đã rửa sạch phơi hay sấy khô của con Tê tê (*Manis pentadactyla* L.), họ Tê tê (Manidae).

Mô tả

Vảy tê tê rời có hình mảnh dẹt, hình quạt xòe hình vỏ hến, giữa dày, mép mỏng, rộng khoảng 1,5 cm đến 4 cm. Mặt lưng màu đen hơi xanh bóng có nhiều vân thẳng hình nan quạt, mép có ít vân vòng cung. Mặt trong màu hơi nhạt hơn, nhẵn, ở giữa có đường

nổi hình nắp vung chữ V, đầu nhọn, hướng tâm. Chất sừng, chắc, hơi dẻo, hơi trong. Mùi hôi khó chịu, vị nhạt.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Benzen - acetone (20 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu thêm 60 ml cloroform (TT) đun hồi lưu trên cách thủy trong 4 giờ, để nguội. Lọc. Bốc hơi dịch lọc đến cạn, hòa cồn trong 1 ml cloroform (TT), được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Xuyên sơn giáp (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra, để bay hơi hết dung môi ở nhiệt độ phòng. Phun lên bản mỏng hỗn hợp anhydrid acetic (TT) và acid sulfuric (TT) (9 : 1). Sấy ở 80 °C trong vài phút.

Quan sát dưới ánh sáng thường, các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Quan sát ở ánh sáng có bước sóng 366 nm, các vết phát quang trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết phát quang trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 4,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Bắt con Tê tê, lột lấy cả tấm da nguyên vảy, nhúng hoặc luộc trong nước sôi, tách lấy vảy, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bào chế

Xuyên sơn giáp sống: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Xuyên sơn giáp sao cách cát: Phân loại vảy Tê tê theo cùng kích thước, cho cát đã rửa sạch vào chảo, đun to lửa (lửa võ) cho nóng, cho Xuyên sơn giáp vào, đảo đều cho đến khi tất cả thuốc đã phồng giòn màu vàng đều, lấy ra sàng loại bỏ cát và để nguội. Giã dập trước khi dùng.

Thổ xuyên sơn giáp: Phân loại Xuyên sơn giáp có cùng kích cỡ. Cho cát đã rửa sạch vào chảo, sao to lửa, thêm tiếp xuyên sơn giáp sạch vào sao cho đến khi Xuyên sơn giáp phồng giòn, sàng loại bỏ cát, nhúng hoặc vảy dầm vào Xuyên sơn giáp nóng, sấy khô, giã dập trước khi dùng. Dùng 3 lít dấm cho 10 kg Xuyên sơn giáp.

Bảo quản

Nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Hàm, hơi hàn. Quy vào các kinh can, vị.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết khứ ứ, thông tuyến sữa, tiêu sưng bài mù, trừ phong kinh lạc. Chủ trị: Kinh bế, kết cục ở bụng, mất sữa, mụn nhọt, phong tê thấp.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, (sắc) dạng bột sau khi đã chế. Hoặc 1 g đến 2 g thuốc tán/lần.

Kiêng kỵ

Không nên dùng cho phụ nữ có thai, mụn nhọt đã phá miệng, người hư nhược.

XUYÊN TIÊU (Quả)***Fructus Zanthoxyli*****Hoa tiêu**

Quả đã phơi khô của nhiều loài Xuyên tiêu (*Zanthoxylum* sp.), họ Cam (Rutaceae).

Mô tả

Quả nhỏ, khô, thường tập trung từ 1 đến 3 hoặc 5 quả trên một cuống chùm quả, xếp thành hình sao. Quả nang, đường kính 3 mm đến 5 mm, khi chín nứt thành hai mảnh vỏ, mặt ngoài màu nâu xám, có nhiều điểm tinh dầu và vân sần sùi hình mạng; mặt trong màu trắng xám, nhẵn bóng. Hạt hình trứng, đường kính 2 mm đến 3 mm, màu đen, nhẵn bóng. Mùi thơm, vị cay tê lưỡi.

Bột

Màu nâu hơi ánh vàng, vị cay. Soi kính hiển vi thấy: Đám sợi dài của vỏ quả ngoài, tế bào mô mềm của vỏ quả hình chữ nhật hoặc đa giác dài, không màu. Mảnh vỏ hạt màu nâu đen khó nhìn rõ tế bào, đôi khi thấy rõ từng đám tế bào gần như hình nhiều cạnh, màu vàng nâu. Các mảnh mạch của cuống quả. Mảnh nội nhũ chứa hạt aleuron và các giọt dầu.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - ethanol 95 % - nước (8 : 2 : 1)*.

Dung dịch thử: 1,0 g dược liệu đã nghiền nhỏ, thêm 100 ml *ethanol 70 % (TT)*, lắc kỹ trong 30 phút, lọc lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1,0 g Xuyên tiêu (mẫu chuẩn) nghiền nhỏ, chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g dược liệu đã nghiền nhỏ.

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ hạt đã rời hẳn ra ngoài: Không quá 2,0 %.

Cuống hoa và cành: Không quá 5,0 %.

Các tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 2,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Hái các chùm quả già đã chín, vỏ quả đã mở, đem phơi thật khô (tuốt lấy quả), khi dùng sao đến có mùi thơm là được.

Bảo quản

Đề nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào ba kinh: Phế, tỳ, thận.

Công năng, chủ trị

Ôn trung tán hàn, trừ thấp, sát trùng. Chủ trị: Đau bụng lạnh, nôn mửa, ỉa chảy, phong thấp, đau răng, đau bụng giun.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 8 g, dạng thuốc sắc hoặc bột. Khi chữa đau răng, dùng nước sắc đặc ngậm nhiều lần rồi nhổ đi.

Kiêng kỵ

Huyết áp cao, âm hư hỏa vượng, táo bón không nên dùng.

XƯƠNG BÒ***Rhizoma Acori*****Thạch xương bò lá to, Thủy xương bò**

Xương bò là thân rễ đã phơi khô, hoặc sấy khô của cây Thạch xương bò lá to (*Acorus gramineus* Soland. var. *macrospadiceus* Yamamoto Contr.), và cây Thủy Xương bò (*Acorus calamus* L. var. *angustatus* Bess.), họ Ráy (Araceae).

Mô tả

Thạch xương bò lá to: Thân rễ hình trụ dẹt, dài 20 cm đến 35 cm, đường kính 5 mm đến 7 mm, đốt dài 7 mm đến 8 mm, hoặc 1 cm về phía ngọn. Phía ngọn đôi khi phân 2 đến 3 nhánh phụ, mỗi nhánh dài khoảng 5 cm, ở mỗi đốt có các rễ thưa và cứng. Khi khô vỏ thân rễ

có màu nâu gỉ sắt. Thề chất cứng, vết bẻ có nhiều xơ. Thân rễ có mùi thơm đặc trưng.

Thủy xương bò: Thân rễ hình trụ dẹt, dài trung bình 50 cm đến 60 cm, có khi tới 1 m, dày 0,5 cm đến 1 cm, đốt dài 1 cm, mau về phía gốc và phía ngọn, đôi khi phân 2 đến 3 nhánh phụ, mỗi nhánh dài khoảng 5 cm, ở mỗi đốt có các rễ phụ thưa. Khi khô vỏ rễ có màu nâu gỉ sắt, điểm nhiều chấm đen. Thề chất dai, xốp. Thân rễ có mùi thơm đặc trưng.

Vi phẫu

Thạch xương bò lá to: Thiết diện của thân rễ hình trái xoan. Tỷ lệ giữa phần từ lớp bản đến vòng nội bì và từ nội bì vào trung tâm là 2 : 1.

Lớp biểu bì cấu tạo từ những tế bào nhỏ, thành dày hóa gỗ. Phần mô mềm vỏ có nhiều bó sợi hình tròn, đường kính khoảng 102 μm . Nhiều bó sợi bên ngoài có tinh thể calci oxalat. Có nhiều tế bào chứa tinh dầu, kích thước khoảng 50 μm . Nhiều hạt tinh bột đơn hoặc kép. Sát vòng nội bì có một lớp bó libe-gỗ xếp thưa. Mỗi bó có đường kính khoảng 306 μm . Libe ở hai đầu, gỗ ở giữa.

Vòng nội bì có một lớp tế bào hình chữ nhật. Phần mô ruột có nhiều bó libe-gỗ. Gỗ ở ngoài, libe ở trong; có một vòng bó libe-gỗ thưa xếp sát vòng nội bì. Ngoài ra còn có nhiều bó libe-gỗ xếp lộn xộn.

Thủy xương bò: Vi phẫu cắt ngang có hình tròn hơi dẹt. Tỷ lệ giữa phần từ lớp bản đến vòng nội bì và từ nội bì vào trung tâm là 0,7 : 1. Lớp biểu bì cấu tạo từ những tế bào nhỏ, thành dày hóa gỗ, dễ bong ra. Phần mô mềm vỏ có nhiều khuyết, đường kính khuyết trung bình 102 μm , có nhiều bó sợi hình tròn, đường kính 102 μm . Nhiều tế bào chứa tinh dầu màu vàng nhạt. Nhiều hạt tinh bột đơn hoặc kép trong tế bào mô mềm. Sát vòng nội bì có một lớp bó libe-gỗ xếp thưa, mỗi bó đường kính trung bình 306 μm , ở giữa có các tế bào chứa các tinh thể calci oxalat bám sát ở bên ngoài các bó sợi. Vòng nội bì có một lớp tế bào hình chữ nhật.

Phần mô ruột: Sát vòng nội bì có một lớp bó libe-gỗ, kích thước tương tự nhau (306 μm) xếp đều đặn. Bên trong ruột cũng có các bó libe-gỗ sắp xếp lộn xộn.

Bột

Thạch xương bò lá to: Bột hơi màu vàng, mùi thơm đặc trưng. Mảnh mô mềm gồm tế bào thành mỏng có nhiều hạt tinh bột đơn hoặc kép. Các tế bào chứa tinh dầu màu nâu nhạt. Nhiều đám sợi có tinh thể calci oxalat hình khối lăng trụ. Tinh thể calci oxalat hình khối nằm rải rác, hoặc tập trung trong bó sợi, đường kính 10 μm đến 40 μm . Các mảnh mạch vạch rải rác riêng lẻ hoặc tập trung thành bó. Nhiều hạt tinh bột hình gần tròn, đường kính 3 μm đến 15 μm , nằm rải rác hoặc trong các mảnh mô mềm.

Thủy xương bò: Màu nâu nhạt, mùi thơm đặc trưng. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột đơn hoặc kép, đường kính 3 μm đến 5 μm . Mảnh mô mềm gồm nhiều tế bào thành mỏng, chứa tinh bột.

Rải rác có mảnh mạch, sợi và tinh thể calci oxalat hình nhiều cạnh. Tế bào chứa tinh dầu màu nâu nhạt. Mảnh bản gồm tế bào nhiều cạnh, màu nâu.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (85 : 15).

Dung dịch thử: Lấy phần tinh dầu sau khi định lượng (xem mục định lượng) hòa tan trong methanol (TT) để được dung dịch có nồng độ 5 % (tt/tt).

Dung dịch đối chiếu: Lấy thân rễ Thạch xương bò (mẫu chuẩn), tiến hành như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ngoài không khí, phun dung dịch vanilin 2 % trong ethanol có acid sulfuric đặc (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C cho đến khi hiện rõ các vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 4,6 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,3 % (Phụ lục 9.7).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 1,5 % đối với Thạch xương bò và 2,0 % đối với Thủy xương bò, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, đào lấy thân rễ, rửa sạch, loại bỏ rễ con, phơi khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, ngâm dược liệu trong nước cho mềm, cắt thành phiến, dài 3 cm đến 5 cm, dày 2 mm đến 3 mm phơi khô. Khi dùng sao với cám gạo tới khi có mùi thơm, màu hơi vàng.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào các kinh tâm, can, tỳ.

Công năng, chủ trị

Thông khiếu, trục đờm, tăng trí nhớ, tán phong, khoan trung khử thấp, giải độc, sát trùng. Chủ trị: Bệnh phong điên giản, đờm vít tắc, hôn mê, hay quên, mộng nhiều, viêm phế quản, tai điếc, đi lỵ đau bụng. Dùng ngoài, trị mụn nhọt, ghẻ lở chảy nước.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 8 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiểm kỵ

Âm hư, hoạt tinh, ra nhiều mồ hôi, không nên dùng.

Ý DĨ (Hạt)**Semen Coicis**

Hạt của quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Ý dĩ (*Coix lachryma-Jobi* L.), họ Lúa (*Poaceae*).

Mô tả

Hạt hình trứng ngắn hay hơi tròn, dài 0,5 cm đến 0,8 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,5 cm. Mặt ngoài màu trắng hay trắng ngà, hơi bóng, đôi khi còn sót lại những mảnh vỏ quả màu đỏ nâu. Mặt trong có rãnh hình máng, đôi khi cợn sót lại vỏ, ở đầu rãnh có một chấm màu nâu đen. Đôi khi nhìn rõ vết của cuống quả. Chất rắn chắc. Chỗ vỡ màu trắng ngà, có bột.

Vị phẫu

Cắt dọc theo rãnh: Nội nhũ chiếm phần lớn, màu trắng, có nhiều tinh bột, phôi hẹp và dài, nằm ở một bên rãnh.

Bột

Hạt tinh bột hình đĩa, một số hạt hình nhẫn, đường kính 2 µm đến 21 µm, rốn thường phân nhánh hình sao.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ether dầu hòa* (60 °C đến 90 °C) - *ethyl acetat* - *acid acetic* (10 : 3 : 0,1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ether dầu hòa* (60 °C đến 90 °C) (TT), chiết siêu âm 30 phút, để nguội, lọc. Bóc hơi dịch lọc trên cách thủy tới cạn, hòa lẫn trong 1 ml *ether dầu hòa* (60 °C đến 90 °C) (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Ý dĩ (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có màu sắc và giá trị R_f giống các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Tỉ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 2 mm: Không quá 2 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 5,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* (TT) làm dung môi.

Chế biến

Ý dĩ được thu hoạch vào mùa thu khi quả đã chín già, cắt lấy quả, phơi khô, đập lấy hạt phơi khô, loại bỏ quả non, lép. Rồi xay xát thu lấy nhân trắng, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Ý dĩ sống: Loại bỏ tạp chất.

Ý dĩ sao cám: Cho cám vào chảo, đun đến khi có khói cho ý dĩ vào chảo và khuấy nhanh tay đến khi bề mặt thuốc chuyển màu vàng nhạt. Đổ ra ngoài, để nguội, sàng loại bỏ cám. Dùng 1 kg cám cho 10 kg Ý dĩ.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn. Quy vào kinh tỳ, phế.

Công năng, chủ trị

Kiểm tỳ bổ phế, thanh nhiệt, thẩm thấp. Chủ trị: Phù thũng, tê thấp chân tay co rút, ỉa chảy do tỳ hư, phế ung, trường ung (viêm ruột thừa), cước khí.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 30 g.

Các chuyên luận
THUỐC TỪ DƯỢC LIỆU

BỘT BÌNH VỊ**Công thức:**

Thương truật (<i>Rhizoma Atractylodis</i>)	80 g
Hậu phác (<i>Cortex Magnolia officinalis</i>)	50 g
Trần bì (<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>)	50 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>)	30 g

Bào chế

Thương truật: Rửa sạch, phơi khô, thái mỏng. Sao với cám gạo tới màu vàng đậm, mùi thơm đặc trưng.

Hậu phác: Chích gừng.

Trần bì: Bỏ màng trắng, thái chỉ, vi sao, hoặc sao vàng.

Cân đủ số lượng các vị thuốc trong công thức trên, tán thành bột mịn, rây và trộn kỹ, sấy khô đến độ ẩm qui định. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận “Thuốc bột dùng để uống” (Phụ lục 1.7).

Tính chất

Bột có màu vàng nhạt, vị đắng, hơi ngọt, mùi thơm nhẹ.

Định tính

A. Soi bột: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi, với thị kính số 5, vật kính 40, so sánh với bột mẫu chuẩn của Cam thảo, Trần bì và Thương truật, bột chế phẩm phải có các sợi chứa tinh thể calci oxalat của Cam thảo, và các tinh thể calci oxalat hình khối vuông hoặc hình quả trám của Trần bì, tinh thể calci oxalat hình kim của Thương truật.

B. Lấy khoảng 10 g chế phẩm, cho vào bình nón có nút mài. Thêm 50 ml *ethanol* 70 % (TT), khuấy đều, đun trên cách thủy 15 phút. Để nguội, lọc lấy dịch chiết. Cắt thu hồi dung môi. Hòa cồn với 10 ml *nước cất* nóng. Lọc. Lấy dịch lọc. Lắc với *ethyl acetat* (TT) 3 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp dịch chiết *ethyl acetat*, bay hơi đến còn khoảng 3 ml dịch chiết, lấy dịch chiết này cho vào 3 ống nghiệm nhỏ, mỗi ống 1 ml dịch chiết để tiến hành các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm một ít bột *magnesi* (TT), thêm từ từ vài giọt *acid hydrochloric* (TT), dung dịch xuất hiện màu đỏ cam.

Ống 2: Thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT), xuất hiện màu vàng cam.

Ống 3: Thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT), xuất hiện màu xanh đen.

Độ ẩm

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.6).

Độ mịn

Lấy 20 g chế phẩm, rây qua rây số 335 (Phụ lục 3.5), phần còn lại không quá 5 %.

Độ đồng nhất

Lấy 20 g chế phẩm, cho vào tờ giấy trắng đặt trong khay men, dùng một thìa nhấn ấn nhẹ trên mặt lớp bột thành một vệt lõm. Quan sát vị trí vệt, màu của chế phẩm phải đồng nhất, không được có màu lốm đốm.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 10 g bột chế phẩm, cho vào bình Soxhlet, thêm 80 ml *ether dầu hoà* (30 °C đến 60 °C) (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 4 giờ, để nguội, bỏ dịch chiết, lấy bã tải mỏng để bay hơi hết ether dầu hoà, cho bã vào bình Soxhlet, thêm 80 ml *ethanol* 70 % (TT), đun hồi lưu trong cách thủy khoảng 3 giờ để chiết hết flavonoid. Để nguội, cắt thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, thêm 10 ml *nước cất* nóng, khuấy kỹ, lọc, lặp lại với 10 ml *nước cất* nóng khác. Dịch lọc thu được chiết với *ethyl acetat* (TT) 5 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết *ethyl acetat*, bay hơi dung môi đến cạn, sấy cạn thu được đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ dưới 80 °C. Cân và tính hàm lượng flavonoid toàn phần.

Hàm lượng flavonoid toàn phần không được dưới 1,0 %.

Độ nhiễm khuẩn

Theo yêu cầu ghi trong Phụ lục 13.6.

Bảo quản

Đóng trong bao bì kín, để nơi khô ráo thoáng mát.

Công năng, chủ trị

Kiện tỳ táo thấp, hành khí hòa vị. Chủ trị: Các trường hợp bụng đầy trướng, căng tức, nôn mửa, tiêu chảy.

Cách dùng, liều dùng

Ngày dùng từ 12 g đến 16 g, chia 2 đến 3 lần, uống với nước sắc của 2 lát gừng và 2 quả táo tàu.

CAO BỔ PHÔI**Công thức:**

Bách bộ (<i>Radix Stemonae tuberosae</i>)	50 g
Xương bồ (<i>Rhizoma Acori</i>)	22 g
Bọ mả (<i>Herba Pouzolziae</i>)	120 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>)	11 g
Trần bì (<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>)	17 g
Cát cánh (<i>Radix Platycodi grandiflori</i>)	12 g
Mạch môn (<i>Radix Ophiopogonis japonici</i>)	50 g
Tinh dầu Bạc hà (<i>Oleum Menthae arvensis</i>)	0,2 ml
Acid Benzoic (<i>Acidum Benzoicum</i>)	2 g
Menthol (<i>Metholum</i>)	0,2 g
Đường trắng (<i>Saccharum</i>)	900 g
Ethanol 50 % (<i>Ethanolum</i> 50 %)	110 ml
Nước vừa đủ (<i>Aqua q.s</i>)	1000 g

Bào chế

Trần bì: Rửa sạch, thái nhỏ, ngâm với 90 ml *ethanol* 50 % (TT) trong 7 ngày, gạn dịch chiết, ép, lọc lấy hết dịch.

Menthol và acid benzoic: Hòa tan với 20 ml *ethanol* 50 % (TT).

Các vị thuốc còn lại (trừ đường trắng và tinh dầu Bạc hà): Rửa sạch, thái lát, xếp vào nồi dùng vỉ ghim chặt để khỏi bông khi sôi, đổ ngập nước 10 cm. Đun sôi

2 giờ đến 3 giờ (chú ý bổ sung bù lượng nước bay hơi). Rút dịch chiết. Đun và rút dịch chiết như trên 2 lần đến 3 lần nữa. Gộp các dịch chiết, cô còn khoảng 1000 ml. Thêm đường trắng, đun sôi để hòa tan và cô còn khoảng 950 ml. Lọc nóng, để nguội. Thêm cồn Trần bì, menthol, acid benzoic, tinh dầu Bạc hà, bổ sung nước vừa đủ 1000 ml, khuấy đều, đóng chai.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Chất lỏng sánh, màu vàng nâu cánh gián, thơm mùi Bạc hà, vị ngọt, hơi cay.

Định tính

A. Định tính menthol.

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 100 ml chế phẩm, lắc với ether (TT) 2 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp các dịch chiết ether và để bay hơi tự nhiên tới cạn. Hòa lẫn trong 1 ml ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,05 g menthol chuẩn trong 2 ml ethanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 5 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu, cùng giá trị R_f với vết menthol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Định tính Bách bộ

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - nước - amoniac (100 : 17 : 13 : 3).

Dung dịch thử: Lấy 40 ml chế phẩm, pha loãng với 40 ml nước, kiểm tra bằng amoniac (TT) tới pH 10 đến 11. Chiết bằng cloroform (TT) 2 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa tan lẫn trong 1 ml ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 2 g Bách bộ đã cắt nhỏ, thêm 100 ml nước, đun sôi nhẹ 30 phút, lọc. Cô dịch lọc đến khi còn khoảng 30 ml, để nguội và tiến hành chiết tiếp như đối với dung dịch thử, bắt đầu từ "kiểm tra bằng amoniac đặc (TT)... hòa tan lẫn trong 1 ml ethanol (TT)".

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun thuốc thử Dragendorff (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu, cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Trần bì

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluen - cloroform - acetone (40 : 25 : 35).

Dung dịch thử: Lấy 60 ml chế phẩm cho vào bình gan, pha loãng với 30 ml nước, kiểm tra bằng amoniac đặc (TT) đến pH 9 đến 10, lắc đều, để yên 30 phút rồi lắc với 30 ml ethyl acetat (TT). Gạn lấy dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa tan lẫn trong 1 ml ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Trần bì đã cắt nhỏ, thêm 100 ml nước, đun sôi nhẹ 30 phút, lọc. Cô dịch lọc còn khoảng 30 ml, để nguội, chuyển vào bình gan. Kiểm tra dung dịch bằng amoniac đặc (TT) đến pH 9 đến 10, lắc đều, để yên 30 phút rồi lắc với 30 ml ethyl acetat (TT). Gạn lấy dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa tan lẫn trong 1 ml ethanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid phosphoric*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 5 phút cho đến khi hiện rõ các vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Định tính Bộ mả

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: n-Butanol - acid acetic - nước (4 : 5 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 25 ml chế phẩm, pha loãng với 25 ml nước, lắc với ethyl acetat (TT) 2 lần, mỗi lần 25 ml. Gộp các dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa tan lẫn trong 1 ml ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 3 g Bộ mả (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, đun trên cách thủy 30 phút 2 lần, mỗi lần với 40 ml ethanol 50 % (TT). Gộp các dịch chiết ethanol, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa tan lẫn trong 1 ml ethanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 30 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, đặt vào bình đã bão hòa hơi amoniac (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ trong và độ đồng nhất

Sánh, đồng nhất, không được có váng mốc, bã dược liệu và vật lạ (Phụ lục 1.1).

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 1,30 đến 1,33 (Phụ lục 6.5, phương pháp dùng tỷ trọng kế).

Bảo quản

Đựng trong lọ kín để nơi mát.

Công năng, chủ trị

Nhuận phế, chỉ khái. Chủ trị: Các chứng ho gió, ho lâu ngày, rất cổ, ráo phổi.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 50 ml, chia làm 2 đến 3 lần. Trẻ em tùy tuổi.

CAO LÔNG HOẮC HƯƠNG CHÍNH KHÍ

Công thức:

Bạch chỉ (<i>Radix Angelicae dahuricae</i>)	240 g
Hậu phác (<i>Cortex Magnoliae officinalis</i>) chế gừng	160 g
Bán hạ (<i>Rhizoma Pinellia</i>) chế	160 g
Hoắc hương (<i>Folium Pogostemi</i>)	240 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>)	80 g
Bạch linh (<i>Poria</i>)	240 g
Thương truật (<i>Rhizoma Atractylodis</i>)	160 g
Đại phúc bì (<i>Pericarpium Arecae catechi</i>)	240 g
Tía tô (<i>Folium Perillae frutescens</i>)	240 g
Trần bì (<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>)	160 g
Đại táo (<i>Fructus Ziziphi jujubae</i>)	130 g
Cát cánh (<i>Radix Platycodi grandiflori</i>)	160 g
Nước vừa đủ (Aqua q.s)	2000 ml

Điều chế

Hậu phác chế gừng, Bán hạ chế gừng theo quy định trong chuyên luận riêng.

Hậu phác: Chiết hồi lưu với 300 ml ethanol 60 % trong 1 giờ, lọc lấy dịch chiết.

Thương truật, Trần bì, Bạch chỉ, Hoắc hương, Tía tô: Chiết bằng cát kéo hơi nước, thu được dịch cát chứa các chất bay hơi.

Bạch linh: Cho nước vừa ngập dược liệu, đun đến sôi và giữ nóng ở 80 °C, tiến hành 2 lần, lần 1 trong 3 giờ, lần 2 trong 2 giờ, lọc, gộp các dịch lọc.

Ngâm Bán hạ chế, Đại phúc bì đến trương nở, sắc trong 3 giờ và lọc, tiến hành làm 2 lần. Cam thảo được sắc kỹ, lọc.

Gộp các dịch lọc trên và cô đến còn khoảng 1000 ml. Để nguội, thêm ethanol 96 % đến khi tủa hoàn toàn (để yên 24 giờ) và lọc. Thêm dịch chiết của Hậu phác.

Phối hợp các dịch cát có chứa các chất bay hơi ở trên, trộn kỹ và thêm nước tới khoảng 1900 ml, để nơi mát 24 giờ và lọc. Thêm chất bảo quản, thêm nước vừa đủ tới 2000 ml. Lọc, đóng lọ 10 ml.

Chế phẩm phải đạt các yêu cầu đề ra trong chuyên luận chung Cao thuốc (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Dung dịch nâu trong, vị cay, đắng.

Định tính

A. Định tính Thương truật

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: Ether dầu hoà - ethyl acetat (20 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 30 ml chế phẩm cho vào bình nón có nút mài thêm 40 ml *n-hexan* (TT) lắc kỹ 15 phút, để qua đêm gạn lấy dịch chiết hexan, cho bay hơi hết dung môi. Hòa cồn vào 1 ml *ethanol* (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Thương truật (mẫu chuẩn) đã tán nhỏ và tiến hành chiết tương tự như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl các dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, bay hơi dung môi, sấy nhẹ ở 70 °C đến 80 °C rồi phun dung dịch *p-dimethyl aminobenzadehyd* 5%, sấy bản mỏng ở 120 °C cho đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Định tính Hoắc hương

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: Benzen.

Dung dịch thử: Lấy 50 ml chế phẩm, bốc hơi đến 10 ml. Thêm 20 ml *benzen* (TT), lắc kỹ, gạn lấy dịch benzen, bay hơi hết dung môi. Hòa cồn vào 1 ml *ethanol* (TT) được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 6 g Hoắc hương (mẫu chuẩn) cắt nhỏ. Tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl các dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để bay hơi hết dung môi, sấy nhẹ ở 70 °C đến 80 °C rồi phun dung dịch *vanilin* 1 % trong *acid sulfuric* (TT), sấy bản mỏng ở 120 °C cho đến khi hiện màu rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Bạch chỉ

Lấy khoảng 10 ml chế phẩm cho vào cốc sứ, dùng phễu thủy tinh cuống dài đặt lên cốc sứ, nút cuống bằng bông ẩm. Đun cách tấm amian trong khoảng 10 phút, để nguội cho nước bay hơi, quan sát trên cuống phễu thủy tinh, phải có bột trắng hoặc các tinh thể hình trụ bám vào.

Độ trong và độ đồng nhất

Sánh, đồng nhất, không được có váng mốc, bã được liệu và vật lạ (Phụ lục 1.1)

Tỷ trọng

Ở 20 °C: $\geq 1,01$ (Phụ lục 6.5, phương pháp dùng tỷ trọng kế).

pH

4,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Chất chiết được

Hàm lượng chất chiết được trong cao không được dưới 5,3 % (kl/kl) (Phụ lục 12.15).

Cân chính xác 10 g chế phẩm để thử.

Bảo quản

Đựng trong lọ màu nâu kín, để nơi mát.

Công năng, chủ trị

Giải biểu hoá thấp, điều khí để điều hòa khí trung tiêu. Chủ trị: Ngoại cảm phong hàn, nội thương thấp trệ hay trúng thử gây nên đau đầu, chóng mặt, cảm giác nặng đầu, tức ngực, thượng vị đau trướng, nôn mửa, tiêu chảy, tỷ vị hàn.

Cách dùng, liều lượng

Dùng 5 ml/lần đến 10 ml/lần, 2 lần một ngày.

Lắc kỹ trước khi dùng.

Kiêng kỵ

Không nên ăn các thứ lạnh, khó tiêu. Thận trọng khi dùng cho người tân dịch thiếu, háo khát âm hư.

CAO HY THIÊM**Công thức:**

Hy thiêm (<i>Herba Siegesbeckiae</i>)	1000 g
Thiên niên kiện (<i>Rhizoma Homalomenae occultae</i>)	50 g
Ethanol 90 % (<i>Ethanolum</i>)	230 ml
Đường trắng (<i>Saccharum</i>)	130 g
Nước vừa đủ (<i>Aqua q.s</i>)	1000 ml

Bào chế

Hy thiêm loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái lát dài 10 cm đến 15 cm. Thiên niên kiện loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái mỏng. Cho các dược liệu vào thùng, dùng vỉ ghim chặt cho dược liệu khỏi bong lên, đổ ngập nước 10 cm. Đun sôi trong 2 giờ (chú ý bù lượng nước bay hơi). Gạn lấy dịch chiết. Chiết tiếp như trên thêm 2 lần nữa. Gộp các dịch chiết, cô còn 500 ml. Để lắng và lọc trong. Thêm đường trắng, đun sôi để hòa tan. Để nguội, thêm ethanol 90 %, khuấy đều, lọc. Thêm nước vừa đủ 1000 ml và đóng chai.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Chất lỏng màu đen, vị ngọt đắng, mùi thơm của Thiên niên kiện.

Định tính

Định tính Hy thiêm.

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol* (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 ml chế phẩm, pha loãng với 10 ml nước, chuyển vào bình gạn, lắc với *ethyl acetat* (TT) 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết *ethyl acetat*, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa cồn trong 2 ml *ethanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g Hy thiêm (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, đun sôi nhẹ với 100 ml nước trong khoảng

1 giờ (chú ý bù nước bay hơi), lọc. Cô dịch lọc còn khoảng 30 ml, để nguội, chuyển vào bình gạn, lắc với *ethyl acetat* (TT) 2 lần, mỗi lần 25 ml. Gộp các dịch chiết *ethyl acetat*, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa cồn trong 1 ml *ethanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch *acid sulfuric* 10 % (TT), sấy bản mỏng ở 110 °C cho tới khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ trong và độ đồng nhất

Sánh, đồng nhất, không được có váng mốc, bã được liệu và vật lạ (Phụ lục 1.1).

Hàm lượng ethanol

18 % đến 20 % (tt/tt) (Phụ lục 10.12).

Tỷ trọng

Ở 20 °C: 1,05 đến 1,10 (Phụ lục 6.5, Phương pháp dùng tỷ trọng kế).

Bảo quản

Đựng trong lọ kín để nơi mát.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, trừ thấp, tán phong, thông kinh chỉ thống. Chủ trị: Các chứng phong thấp sưng nóng đỏ đau, chân tay tê bại, đau lưng mỏi gối do phong thấp nhiệt gây nên.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 60 ml, chia làm 3 lần. Bệnh nặng dùng nhiều hơn.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người phong thấp có hư hàn.

CAO ÍCH MẪU**Công thức:**

Hương phụ (<i>Rhizoma Cyperi</i>) chế dấm	250 g
Ích mẫu (<i>Herba Leonuri japonici</i>)	800 g
Ngải cứu (<i>Herba Artemisiae vulgaris</i>)	200 g
Acid benzoic (<i>Acidum Benzoicum</i>)	2 g
Ethanol 90 % (<i>Ethanolum</i> 90 %)	180 ml
Đường trắng (<i>Saccharum</i>)	600 g
Nước vừa đủ (<i>Aqua q.s</i>)	1000 ml

Bào chế

Hương phụ chế dấm theo chuyên luận riêng. Ích mẫu, Ngải cứu loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái dài 5 cm đến 10 cm, trộn đều. Lấy một nửa lượng Ích mẫu và Ngải cứu xếp dưới đáy nồi, giữa để Hương

phụ, trên cùng cho nốt phần Ích mẫu, Ngải cứu còn lại. Lấy vỉ ghim chặt được liệu, đổ nước ngập được liệu 10 cm. Đun sôi đều trong 4 giờ (chú ý bù nước bay hơi). Gạn dịch chiết, để lắng, lọc trong. Chiết tiếp như trên từ 2 đến 3 lần nữa. Gộp dịch chiết, cô đặc còn khoảng 600 ml, thêm đường trắng và đun sôi để hòa tan đường. Thêm ethanol 90 %, thêm acid benzoic và thêm nước vừa đủ 1000 ml. Lọc và đóng chai. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận “Cao thuốc” (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Chất lỏng sánh màu nâu đen, thơm mùi được liệu, vị ngọt hơi đắng.

Định tính

A. Định tính Ích mẫu

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic* (15 : 2 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 ml chế phẩm, pha loãng với 20 ml nước, chuyển vào bình gạn, lắc với 30 ml *ethyl acetat* (TT). Gạn lấy dịch chiết *ethyl acetat*, bốc hơi trên cách thủy đến cạn. Hòa tan căn trong 1 ml *ethanol 96 %* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 6 g Ích mẫu (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, thêm 100 ml nước, đun sôi nhẹ 1 giờ (chú ý bổ sung nước bay hơi), lọc. Cô dịch lọc trong cách thủy đến còn khoảng 30 ml, để nguội, chuyển vào bình gạn, lắc với 30 ml *ethyl acetat* (TT). Gạn lấy dịch chiết *ethyl acetat*, bốc hơi trên cách thủy đến cạn. Hòa tan căn trong 1 ml *ethanol 96 %* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 14 cm đến 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch *sắt (III) clorid 5 % trong ethanol* (TT), quan sát ở ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Định tính Ngải cứu

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic* (15 : 2 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử ở phần định tính Ích mẫu.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Ngải cứu (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, thêm 100 ml nước, đun sôi nhẹ 1 giờ (chú ý bổ sung bù nước bay hơi), lọc. Cô dịch lọc trong cách thủy đến còn khoảng 30 ml, để nguội, chuyển vào bình gạn, lắc với 30 ml *ethyl acetat* (TT). Gạn lấy dịch chiết *ethyl acetat*, bốc hơi trên cách thủy đến cạn. Hòa tan căn trong 1 ml *ethanol 96 %* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 14 cm đến 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ trong và độ đồng nhất

Chất lỏng sánh, đồng nhất, không được có váng mốc, bã được liệu và vật lạ (Phụ lục 1.1).

Thêm cùng thể tích nước không được đục.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 1,20 đến 1,23 (Phụ lục 6.5, phương pháp dùng tỷ trọng kế).

Hàm lượng ethanol

14 % đến 17 % (Phụ lục 10.12).

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, để nơi mát.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết, điều kinh. Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, khí hư bạch đới, rong huyết và băng huyết do huyết ứ, hành kinh đau bụng. Làm cho tử cung chóng co lại như cũ sau khi sinh.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 25 ml, chia làm 2 lần. Bệnh nặng dùng liều gấp đôi.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai dùng nên thận trọng, kiêng ăn các thức ăn lạnh khi dùng thuốc.

CAO LÔNG TỬ NGHỊCH

Công thức:

Hắc phụ tử (<i>Radix Aconiti lateralis</i>)	300 g
Can khương (<i>Rhizoma Zingiberis officinalis</i>)	200 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>) chích mật	200 g
Siro đơn (<i>Sirupus simplex</i>)	300 ml
Nước vừa đủ (<i>Aqua q.s</i>)	1000 ml

Bào chế

Phụ tử chế Hắc phụ tử và Cam thảo chích mật theo qui định trong chuyên luận riêng. Sắc Hắc Phụ tử và chích Cam thảo 2 lần, lần một trong 2 giờ, lần hai trong 1,5 giờ. Gộp dịch sắc và lọc. Dùng phương pháp cất kéo hơi nước để cất riêng tinh dầu, chất bay hơi của Can khương và dịch nước cất Can khương bão hòa tinh dầu để vào các dụng cụ riêng biệt. Sắc bã Can khương cùng với nước trong 1 giờ. Gộp dịch sắc Can khương và nước cất chứa tinh dầu của Can khương và lọc. Gộp dịch lọc với dịch sắc của Hắc phụ tử và chích Cam thảo, cô đặc đến còn khoảng 400 ml. Để nguội,

thêm 1200 ml ethanol 95 %, khuấy kỹ, để yên trong 24 giờ, lọc và cô chân không đến dịch chiết đặc. Hòa loãng dịch đặc này với một lượng nước thích hợp, giữ ở chỗ mát trong 24 giờ và lọc. Thêm 300 ml siro đơn, chất bảo quản, tinh dầu và chất bay hơi Can khương ở trên. Thêm nước tới đủ 1000 ml, khuấy đều, đóng lọ 10 ml và tiệt trùng.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận “Cao thuốc” (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Chất lỏng hơi sánh, màu vàng hơi nâu, mùi thơm, vị ngọt hơi cay.

Định tính

A. Định tính Cam thảo.

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid acetic băng - acid formic - nước (15 : 1 : 1 : 2).

Dung dịch thử: Lấy 20 ml chế phẩm, chiết bằng 20 ml n-butanol (TT), gạn lấy lớp dịch chiết n-butanol và cô thu hồi dung môi đến gần khô và hòa lẫn này vào 2 ml methanol (TT) làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Cam thảo (mẫu chuẩn), thêm 40 ml ether (TT), đun hồi lưu cách thủy trong 1 giờ, bỏ dịch chiết ether. Thêm 30 ml methanol (TT) vào phần bã Cam thảo, đun hồi lưu cách thủy trong 1 giờ, lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô, hòa tan lẫn này trong 20 ml nước làm dung dịch đối chiếu.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl của mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu lên bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT), sấy ở 105 °C, quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Các vết phát huỳnh quang trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có cùng giá trị R_f và màu với các vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu.

B. Định tính Can khương

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid acetic băng - acid formic - nước (15 : 1 : 1 : 2).

Dung dịch thử: Lấy 20 ml cao lỏng, chiết bằng 20 ml n-butanol (TT), gạn lấy lớp dịch chiết n-butanol và cô thu hồi dung môi đến gần khô, hòa lẫn này vào 2 ml methanol (TT) làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g Can khương (mẫu chuẩn), thêm 30 ml nước, đun hồi lưu cách thủy trong 1 giờ, để nguội, lọc, chiết dịch lọc bằng 40 ml n-butanol, gạn lấy n-butanol, cô thu hồi dung môi đến khô, hòa tan lẫn trong 2 ml methanol (TT) làm dung dịch đối chiếu.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl của mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun dung dịch vanillin 1 % trong acid sulfuric (TT), sấy ở 105 °C đến hiện rõ vết, quan sát dưới đèn tử ngoại bước sóng 365 nm. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Thử giới hạn aconitin và hypacotin

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - ammoniac (5 : 5 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 70 ml chế phẩm, điều chỉnh đến pH 10 bằng amoniac đậm đặc (TT). Chiết 3 lần, mỗi lần 100 ml ether (TT). Gộp dịch chiết ether và thu hồi ether đến gần khô, hòa tan lẫn vào 2 ml ethanol (TT) làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan aconitin chuẩn và hypacotin chuẩn trong ethanol (TT) để được dung dịch chứa 2 mg mỗi chất chuẩn trên trong 1 ml làm dung dịch đối chiếu.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 6 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu lên bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký và lấy bản mỏng ra, làm khô trong không khí, phun thuốc thử Dragendorff (TT). Các vết cùng giá trị R_f với các vết của aconitin và hypacotin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải không xuất hiện hoặc nếu xuất hiện thì phải có kích thước nhỏ hơn và không đậm màu hơn so với các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 1,07 đến 1,09 (Phụ lục 6.5, phương pháp dùng tỷ trọng kế).

Chỉ số khúc xạ

Ở 20°C: Từ 1,31 đến 1,41. (Phụ lục 6.1).

Độc tính bất thường

Đạt yêu cầu theo phương pháp thử độc tính bất thường (Phụ lục 13.5), cho chuột uống với liều 1 ml/chuột.

Bảo quản

Đóng trong lọ nút kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Hồi dương cứu nghịch. Chủ trị: Hư thoát do vong dương với các biểu hiện toát mồ hôi lạnh, chân tay quyết lạnh, tiêu chảy sống phân, nôn mửa, bụng đau, mạch vi muốn tuyệt (mạch rất nhỏ, yếu, khó nhận thấy).

Cách dùng và liều lượng

Uống mỗi lần 10 ml đến 20 ml, ngày 3 lần hoặc theo chỉ dẫn của thầy thuốc.

CAO TANG CÚC ẨM

Công thức

Tang diệp (<i>Folium Mori albae</i>)	200 g
Cúc hoa vàng (<i>Flos Chrysanthemi indicis</i>)	80 g
Liên kiều (<i>Fructus Forsythiae suspensae</i>)	120 g
Bạc hà (<i>Herba Menthae</i>)	60 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>)	60 g
Khô hạnh nhân (<i>Semen Armeniacae amarum</i>)	160 g
Cát cánh (<i>Radix Platycodi grandiflori</i>)	160 g
Lô căn (<i>Rhizoma Phragmitis</i>)	160 g

Điều chế

Chế biến các vị thuốc theo qui định trong các chuyên luận riêng. Hạnh nhân và Bạc hà cắt riêng theo phương pháp cắt kéo hơi nước được nước cất Bạc hà - Hạnh nhân, để riêng. Bã Hạnh nhân, Bạc hà và các dược liệu còn lại được sắc với nước hai lần, mỗi lần 2 giờ đến 3 giờ, để nguội, lọc lấy các dịch chiết. Gộp và cô các dịch chiết còn khoảng 400 ml. Để nguội, thêm khoảng 1000 ml ethanol 96 %, khuấy đều, để lắng 24 giờ, lọc và cô đặc ở áp suất giảm tới cao đặc. Phối hợp nước cất Bạc hà - Hạnh nhân, thêm chất bảo quản, thêm nước vừa đủ 1000 ml. Đóng chai. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Chất lỏng màu nâu đen, mùi thơm, vị hơi ngọt đắng nhẹ.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 1,03 đến 1,05 (Phụ lục 6.5, phương pháp dùng tỷ trọng kế).

Chỉ số khúc xạ

Ở 20 °C: Từ 1,30 đến 1,40 (Phụ lục 6.1).

Định lượng amygdalin

Lấy chính xác 100 ml chế phẩm cho vào bình cầu dung tích 250 ml. Lắp vào dụng cụ sinh hàn để cất thu hồi chất bay hơi. Cất lấy khoảng 10 ml dịch cất (đong chính xác) cho vào bình nón dung tích 100 ml, thêm 2 ml kali iodid (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ) cho đến khi có màu trắng đục hơi vàng. Song song làm mẫu trắng. 1 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 N tương đương với 91,48 mg amygdalin. Chế phẩm phải chứa hàm lượng amygdalin từ 0,65 % đến 0,79 %.

Bảo quản

Đựng trong bao bì nút kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Sơ phong thanh nhiệt, tuyên phế chi khái. Chủ trị: Thái âm phế tỷ phong ôn, ho, cảm cúm, viêm phế quản, viêm đường hô hấp trên, miệng ho khan.

Cách dùng, liều lượng

Người lớn ngày uống 2 lần mỗi lần 25 ml.
Trẻ em tùy theo tuổi.

ĐỘC HOẠT KỶ SINH THANG

Thuốc sắc Độc hoạt kỷ sinh

Công thức

Độc hoạt (<i>Radix Angelicae pubescentis</i>)	12 g
Quế nhục (<i>Cortex Cinnamomi</i>)	8 g
Phòng phong (<i>Radix Saposhnikoviae divaricatae</i>)	8 g
Đương quy (<i>Radix Angelicae sinensis</i>)	8 g
Tế tân (<i>Herba Asari</i>)	8 g
Xuyên khung (<i>Rhizoma Ligustici wallichii</i>)	8 g
Tần giao (<i>Radix Gentianae macrophyllae</i>)	8 g
Bạch thược (<i>Radix Paeoniae lactiflorae</i>)	8 g
Tang ký sinh (<i>Herba Loranthe</i>)	8 g
Can địa hoàng (<i>Radix Rhemanniae glutinosae</i>)	8 g
Đỗ trọng (<i>Cortex Eucommiae</i>) tẩm gừng sao	8 g
Nhân sâm (<i>Radix Ginseng</i>)	8 g
Ngưu tất (<i>Radix Achysanthis bidentatae</i>)	8 g
Phục linh (<i>Poria</i>)	8 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>)	8 g

Bào chế

Các vị thuốc được chế theo chuyên luận riêng.

Tính chất

Các vị thuốc trong thang phải khô, sạch, có mùi thơm. Thang thuốc có mùi đặc trưng của Độc hoạt.

Định tính

Thang thuốc phải có đủ và đúng các vị thuốc theo công thức.

Tạp chất

Không được có (Phụ lục 12.11).

Độ ẩm

Lấy 3 vị dược liệu bất kỳ trong thang thuốc, xác định độ ẩm theo Phụ lục 12.13 (đối với dược liệu chứa tinh dầu) hoặc theo Phụ lục 9.6 (đối với dược liệu khác). Các vị thuốc phải đạt yêu cầu về độ ẩm qui định ở từng chuyên luận.

Sai số khối lượng

Đối với từng vị thuốc: Khối lượng trên nhãn $\pm 10\%$ (đối với vị có khối lượng ≤ 10 g) hoặc $\pm 7,5\%$ (đối với vị có khối lượng > 10 g).

Đối với thang thuốc: Khối lượng trên nhãn $\pm 7,5\%$.

Bảo quản

Nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Ích can thận, bổ khí huyết, khu phong tán hàn trừ thấp, thông kinh hoạt lạc. Chủ trị: Can, thận đều hư, phong hàn thấp gây đau nhức mỏi, thắt lưng, đầu gối, các chi dưới co duỗi khó khăn, cảm giác nặng nề.

Cách dùng, liều lượng

Thuốc sắc, ngày uống 1 thang, uống trước bữa ăn.

HOÀN AN THAI

Công thức:

Cao ban long (<i>Colla Cornus Cervi</i>)	16 g
Sa nhân (<i>Fructus Amomi</i>)	20 g
Hoài sơn (<i>Tuber Dioscoreae persimilis</i>)	120 g
Thục địa (<i>Radix Rehmanniae glutinosae praeparata</i>)	80 g
Trữ ma căn (<i>Radix Boehmeriae niveae</i>)	80 g
Tô ngạnh (<i>Caulis Perillae</i>)	12 g
Hương phụ (<i>Rhizoma Cyperi</i>)	20 g
Tục đoạn (<i>Radix Dipsaci</i>)	42 g
Ngải cứu (<i>Herba Artemisiae vulgaris</i>)	80 g
Trần bì (<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>)	20 g
Mật ong vừa đủ (<i>Mel q.s</i>)	1000 g

Điều chế

Ngải cứu: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái ngắn, phơi khô. Tục đoạn: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái lát dày 2 mm đến 5 mm, phơi hoặc sấy nhẹ, tẩm với rượu đủ ẩm đều (khoảng 10 %), ủ cho thấm rồi sao vàng xém cạnh.

Hoài sơn, Trữ ma căn, Hương phụ, Thục địa: Chế theo chuyên luận riêng.

Sa nhân, Tô ngạnh, Trần bì: Loại tạp và vi sao.

Các vị thuốc được sấy khô ở nhiệt độ dưới 70 °C, tán bột và trộn đều qua rây số 180.

Thục địa nấu thành cao mềm có hàm ẩm 30 %. Rồi hòa nóng Cao ban long trong cao thục địa. Mật ong cô luyện. Cứ 100 g bột dùng 90 g đến 120 g cao Thục địa - Cao Ban long và Mật ong.

Tất cả được trộn nóng tạo thành khối bột dẻo rồi chia thành viên 9 g.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận "Thuốc hoàn" Phụ lục 1.11 và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn mềm hình cầu nhuần dẻo, màu nâu đen bóng, đường kính 20 mm đến 22 mm, vị ngọt đắng nhẹ, thơm mùi Ngải cứu và Hương phụ.

Định tính

A. Soi bột: Lông che chở đầu đa bào 3 tế bào dài 13 µm đến 15 µm, chân đơn bào dài 3 µm đến 6 µm (hình chữ T). Các tinh thể calci oxalat hình cầu có đường kính 5 µm đến 9 µm. Đám tế bào tiết tinh dầu chứa 3 đến 4 tế bào có đường kính 5 µm đến 20 µm. Túi tinh dầu nằm rải rác có đường kính 30 µm đến 40 µm. Mạch điểm rộng khoảng 30 µm.

B. Định tính Sa nhân

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat* (7 : 3).

Dung dịch thử: Lấy 20 g chế phẩm cắt nhỏ, thêm 40 ml *ethanol* (TT), ngâm 4 giờ, lọc, dịch lọc để bay hơi ở nhiệt độ phòng đến cạn. Hòa tan cần trong 1 ml *ethanol* (TT) được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Sa nhân (mẫu chuẩn), thêm 10 ml *ethanol* (TT), ngâm trong 4 giờ, lọc, dịch

lọc để bay hơi tự nhiên đến cạn. Hòa tan cần trong 1 ml *ethanol* (TT) được dung dịch chấm sắc ký.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải có 3 cặp vết cùng giá trị R_f và màu sắc.

C. Định tính Ngải cứu

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic* (15 : 2 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 g chế phẩm cắt nhỏ, thêm 50 ml nước, đun sôi trong 1 giờ. Để nguội, lọc, cô dịch lọc trong cách thủy đến cạn. Hòa tan cần trong 10 ml *ethyl acetat* (TT). Lọc, cô dịch lọc trên cách thủy tới cạn, hòa tan cần trong 1 ml *ethanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Ngải cứu (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, thêm 50 ml nước, tiến hành chiết tiếp như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới đèn tử ngoại, bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có màu sắc và giá trị R_f tương tự như các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng chất bay hơi

Cân chính xác khoảng 100 g chế phẩm cho vào bình cầu. Tiến hành định lượng chất bay hơi trong chế phẩm theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).

Chất bay hơi thu được trong chế phẩm xác định theo công thức:

$$X\% = \frac{(V_2 - V_1) \times 100}{m}$$

Trong đó:

V_1 là thể tích *xylene* cho vào (1 ml);

V_2 là thể tích tinh dầu và *xylene* đọc được cuối cùng;

m là khối lượng mẫu cất chất bay hơi (g).

Chế phẩm phải chứa ít nhất 0,08 % chất bay hơi.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín, để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Công năng, chủ trị

An thai, dưỡng huyết, chỉ huyết. Chủ trị: Các trường hợp động thai, rong huyết, mệt mỏi, nôn, hoa mắt, chóng mặt, tiểu tiện vàng, đại tiện táo.

Cách dùng, liều lượng

Dùng 2 lần một ngày, mỗi lần 1 viên, uống với nước ấm.

HOÀN BÁT TRÂN**Công thức**

Đảng sâm (<i>Radix Codonopsis pilosulae</i>)	100 g
Đương quy (<i>Radix Angelicae sinensis</i>) chế rượu	100 g
Bạch truật (<i>Rhizoma Atractylodis macrocephalae</i>) sao	100 g
Bạch thược (<i>Radix Paeoniae lactiflora</i>)	100 g
Bạch linh (<i>Poria</i>)	100 g
Xuyên khung (<i>Rhizoma Ligustici wallichii</i>)	100 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhiae</i>)	50 g
Thục địa (<i>Radix Rehmaniae glutinosae praeparata</i>)	100 g
Mật ong vừa đủ (<i>Mel q.s</i>)	

Bào chế

Đương quy chế rượu, Bạch truật sao theo qui định trong chuyên luận riêng. Sấy khô nhiệt độ dưới 70 °C và nghiền 8 vị thuốc trên thành bột mịn, trộn đều thành bột kếp, rây qua rây số 180. Nếu làm hoàn cứng, lấy 100 g bột kếp, thêm 40 g đến 50 g mật luyện hòa loãng trong lượng nước sôi thích hợp, gậy nhàn, làm hoàn cứng và sấy khô. Nếu làm hoàn mềm, cứ 100 g bột kếp, thêm 110 g đến 140 g mật ong luyện nóng, trộn mềm nhuyễn, chia viên hoàn 9 g.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận “Thuốc hoàn” (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn cứng màu đen hơi nâu.

Hoàn mềm màu đen hay nâu hơi đen, mềm, nhuyễn, có vị ngọt và hơi đắng.

Định tính

A. Bạch linh, Cam thảo: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi với độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột mẫu chuẩn của Bạch linh và Cam thảo, bột chế phẩm phải có các khối phân nhánh không đều, không màu, hòa tan trong *dung dịch clorua hydrat (TT)*, sợi nấm không màu hay nâu nhạt, hơi cong và phân nhánh của Bạch linh; các bó sợi mang tinh thể calci oxalat hình lăng trụ của Cam thảo.

B. Định tính Đương quy

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 g chế phẩm, tán thành bột thô hoặc cắt nhỏ, thêm 30 ml *ether (TT)*, lắc trên máy lắc 30 phút, lọc lấy dịch chiết. Chiết như trên thêm một lần nữa. Gộp các dịch chiết ether, để bay hơi tự nhiên đến khô. Hòa cồn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 0,5 g bột Đương quy (mẫu chuẩn), thêm 15 ml *ether (TT)* rồi tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Đảng sâm

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: n - Hexan - ethyl acetat (2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 g hoàn, nghiền nhỏ, nếu là hoàn mềm thì cắt nhỏ, thêm 50 ml *methanol (TT)*, đun sôi trên cách thủy 30 phút, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Khuấy kỹ cặn với *n-butanol (TT)* 3 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết butanol, cô trên cách thủy đến cạn. Thêm vào cặn 30 ml *dung dịch acid sulfuric 20 % (TT)*, đun sôi hồi lưu trong 2 giờ, để nguội, lọc lấy tủa, rửa bằng nước cất cho hết phản ứng acid, sấy khô ở 70 °C. Thêm vào tủa 20 ml *cloroform (TT)*, đun trên cách thủy nóng, lọc, cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cồn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 12 g Đảng sâm (mẫu chuẩn) đã tán nhỏ, thêm 30 ml *n-butanol (TT)* và tiến hành chiết như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy ở 110 °C cho đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ẩm.

Công năng, chủ trị

Bổ khí, dưỡng huyết. Chủ trị: Khí huyết lưỡng hư có biểu hiện: mặt nhợt, chán ăn, lưỡi nhợt, khí đoản, sắc mặt bệch, chóng mặt hoa mắt, tim đập hồi hộp.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần 6 g hoàn cứng, hoặc 1 viên hoàn mềm, ngày uống 2 lần.

HOÀN BÁT VỊ**Công thức**

Quế chi (<i>Ramulus Cinnamomi</i>)	22 g
Hắc Phụ tử (<i>Radix Aconiti lateralis</i>)	22 g
Thục địa (<i>Radix Rehmaniae glutinosae praeparata</i>)	176 g
Sơn thù (<i>Fructus Corni officinalis</i>)	88 g
Mẫu đơn bì (<i>Cortex Paeoniae suffruticosae</i>)	66 g
Hoài sơn (<i>Tuber Dioscoreae persimilis</i>)	88 g
Phục linh (<i>Poria</i>)	66 g
Trạch tả (<i>Rhizoma Alismatis</i>)	66 g
Mật ong vừa đủ (<i>Mel q.s</i>)	1000 g

Bào chế

Phụ tử chế Hắc phụ tử, Sơn thù chế rượu theo qui định trong chuyên luận riêng.

Quế chi thái phiến, tẩm nước Ngưu tất, Ngũ vị tử (100 ml nước sắc dùng 1 g Ngũ vị tử và 3 g Ngưu tất), ủ trong 12 giờ cho ngấm đều, sấy nhẹ cho khô (40 °C đến 50 °C), thái nhỏ. Thục địa thái lát dày 2 mm đến 3 mm, tẩm rượu cho mềm, trộn với các vị thuốc khác, giã nát với nhau, sấy khô nghiền thành bột mịn, trộn đều thành bột kép, rây qua rây số 180. Mật ong cô luyện thành châu. Cứ 100 g bột kép dùng 80 g đến 110 g mật luyện nóng, trộn đều đến nhuyễn. Chia thành các hoàn mềm 9 g.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận “Thuốc hoàn” (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn hình cầu màu nâu hơi đen bóng, vị ngọt hơi chua và cay.

Định tính

A. Hoài sơn, Bạch linh, Quế, Trạch tả: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi với độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột mẫu chuẩn của Hoài sơn, Trạch tả, Bạch linh và Quế chi thấy: Hạt tinh bột hình chuông, hình trứng, dài 10 µm đến 60 µm, rộng khoảng 20 µm, có vân đồng tâm, rốn lệch tâm, hình chấm hay hình vạch của Hoài sơn. Các hạt tinh bột hình trứng dài, hình bầu dục, đường kính 3 µm đến 14 µm, rốn hình khe ngắn, hình chữ Y, chữ V, đứng riêng lẻ hay kép đôi, kép 3 của Trạch tả. Các khối phân nhánh không đều, không màu, hòa tan trong *dung dịch clorua hydrat (TT)*, sợi nấm không màu, hơi cong và phân nhánh của Bạch linh. Các sợi dài đặc biệt hình thoi, màu vàng nâu, thành dày khoang hẹp, tế bào mô cứng hình chữ nhật hay hình trái xoan thành dày, khoang rộng có ống trao đổi rõ của Quế.

B. Định tính Thục địa

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 15 g chế phẩm, cắt nhỏ, thêm 40 ml *methanol (TT)*, đun sôi trên cách thủy 15 phút, gạn và lọc lấy dịch chiết. Bã được chiết như trên 2 lần nữa. Gộp các dịch chiết methanol, cô trên cách thủy tới cạn. Khuấy kỹ lẫn với *n-butanol (TT)* 3 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp các dịch chiết butanol, bốc hơi trên cách thủy tới cạn. Hòa lẫn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1,5 g Thục địa (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong hỗn hợp đồng thể tích acid phosphoric và ethanol*, sấy bản mỏng ở 110 °C đến khi hiện rõ các vết. Trên sắc ký đồ của

dung dịch thử phải cho vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độc tính bất thường

Thử theo Phụ lục 13.5. Lấy 3 g bột viên, thêm 7,5 ml nước cất nghiền nhuyễn và lắc đều. Cho chuột uống 1 ml/chuột.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Ôn bổ thận dương. Chủ trị: Thận dương bất túc, thất lưng đau gối mỏi, nửa người dưới thường có cảm giác lạnh, bụng dưới đau co lại, tiểu tiện hoặc ít hoặc nhiều. Có thể dùng cho đờm ảm, cước khí, tiêu khát, chuột rút.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần 1 hoàn, ngày 2 lần, uống lúc đói.

HOÀN BỔ TRUNG ÍCH KHÍ**Công thức**

Hoàng kỳ (<i>Radix Astragali membranacei</i>)	100 g
Đảng sâm (<i>Radix Codonopsis pilosulae</i>)	30 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>)	30 g
Bạch truật (<i>Radix Atractylodis macrocephalae</i>)	30 g
Đương quy (<i>Radix Angelicae sinensis</i>)	20 g
Thăng ma (<i>Rhizoma Cimicifugae</i>)	30 g
Sài hồ (<i>Radix Bupleuri</i>)	30 g
Trần bì (<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>)	30 g
Gừng tươi (<i>Rhizoma Zingiberis</i>)	12 g
Đại táo (<i>Fructus Ziziphi jujubae</i>)	102 g
Mật ong vừa đủ (<i>Mel q.s</i>)	1000 g

Bào chế

Hoàng kỳ chế mật, Cam thảo chích mật, Bạch truật tẩm hoàng thổ sao vàng. Đảng sâm tẩm nước cốt gừng sao khô. Trần bì thái sợi và vi sao theo chuyên luận riêng. Sấy khô các vị thuốc trên và Đương quy, Thăng ma, Sài hồ; nghiền thành bột mịn, trộn đều thành bột kép, rây qua rây số 180. Đại táo cùng với Gừng tươi còn lại cắt nhỏ, cho vào nấu 2 lần cho đến khi nhừ hết và tiết hết chất ngọt, lọc bỏ bã, cô đặc. Trộn bột kép với dịch cô đặc và mật luyện sôi cho nhuyễn. Cứ 100 g bột kép dùng 100 g đến 120 g mật luyện. Làm viên hoàn mềm 9 g.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận “Thuốc hoàn” (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn hình cầu màu đen, mùi thơm, vị ngọt sau hơi đắng, cay.

Định tính

A. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều loại sợi khác nhau, riêng lẻ hay tập trung thành bó, một số sợi mang tinh thể calci oxalat hình khối. Nhiều tinh thể calci oxalat

hình kim riêng lẻ hay tập trung thành đám. Tế bào cứng thành dày thấy rõ lỗ trao đổi. Mảnh mô mềm nhiều khi mang hạt tinh bột. Hạt tinh bột hình dạng khác nhau riêng lẻ hay tập trung thành khối. Mảnh vỏ quả ngoài gồm các tế bào hình dạng khác nhau, thành hơi dày. Mảnh bản, các mảnh mạch xoắn, mạch điểm, mạch vạch. Các hạt phấn hoa có hình dạng, kích thước khác nhau.

B. Định tính Cam thảo

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - aceton (7 : 3).

Dung dịch thử: Lấy 10 g chế phẩm, nghiền hoặc cắt nhỏ, thêm 20 ml *methanol* (TT), dùng đũa thủy tinh dần nhuyễn, gạn, lọc. Bã được chiết như trên 2 lần nữa. Tập trung các dịch lọc, cô trên cách thủy tới còn khoảng 5 ml.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Cam thảo (mẫu chuẩn), cắt nhỏ, thêm 20 ml *methanol* (TT), đun sôi trên cách thủy 20 phút, lọc, bã được chiết như trên 2 lần. Tập trung các dịch lọc, cô cạn trên cách thủy còn khoảng 5 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng rồi quan sát dưới ánh sáng có bước sóng 254 và 366 nm, hoặc phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric* (TT), sấy bản mỏng ở 100 °C đến khi hiện rõ các vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết chính cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Đương qui

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (95 : 5).

Dung dịch thử: Dùng dịch chiết trong *methanol* của phần định tính Cam thảo.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Đương qui (mẫu chuẩn), thêm 5 ml *methanol* (TT), lắc kỹ 10 phút, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy tới cạn. Hòa cồn trong 1 ml *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng rồi quan sát dưới ánh sáng có bước sóng 366 nm, hoặc phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric* (TT), sấy bản mỏng ở 100 °C đến khi hiện rõ các vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết chính cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Bảo quản

Để nơi khô, trong bao bì kín.

Công năng, chủ trị

Bổ khí thăng đề. Chủ trị: Tỳ vị khí hư, biểu hiện mệt mỏi, chán ăn, trướng bụng; thiếu khí hạ hãm biểu hiện ở phân lỏng, ỉa chảy lâu ngày, thoát giang hay sa trực tràng, sa dạ con.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần 1 hoàn, ngày 2 lần đến 3 lần, uống trước bữa ăn 2 giờ.

Kiêng kỵ

Nhiệt lý mới phát, đạo hãn, đau đầu, mất ngủ do huyết áp, thổ huyết, nục huyết, khí nghịch, suyễn thổ cấp. Kiêng ăn các thứ sống, lạnh khi đang dùng thuốc.

HOÀN LỤC VỊ

Công thức

Thục địa (<i>Radix Rehmanniae glutinosae praeparata</i>)	160 g
Hoài sơn (<i>Tuber Dioscoreae persimilis</i>)	80 g
Sơn thù (<i>Fructus Corni officinalis</i>) chế rượu	80 g
Mẫu đơn bì (<i>Cortex Paeoniae suffruticosae</i>)	60 g
Phục linh (<i>Poria</i>)	60 g
Trạch tả (<i>Rhizoma Alismatis</i>)	60 g
Mật ong, tá dược vừa đủ (<i>Mel et excipient q.s</i>)	1000 g

Bào chế

Sơn thù chế rượu và các vị thuốc khác chế theo qui định trong chuyên luận riêng. Thục địa thái lát mỏng. Các vị thuốc được sấy khô, nghiền thành bột mịn. Trộn đều thành bột kép, rây qua rây số 180. Nếu làm hoàn cứng thì cứ 100 g bột kép trên thêm 35 g đến 50 g mật luyện hòa loãng bằng lượng nước sôi thích hợp, làm viên và sấy khô. Nếu làm thành hoàn mềm thì cứ 100 g bột kép trên thêm 80 g đến 110 g mật luyện sôi, trộn mềm nhuyễn, làm hoàn mềm 9 g. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn cứng hình cầu màu đen nâu, mùi thơm của dược liệu, vị ngọt và chua.

Hoàn mềm hình cầu có màu đen nâu, mùi thơm của dược liệu có vị ngọt và chua.

Định tính

A. Định tính Hoài sơn, Trạch tả và Phục linh: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi với độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột mẫu chuẩn của Hoài sơn, Phục linh và Trạch tả, thấy: Các hạt tinh bột hình chuông, hình trứng, dài 10 µm đến 60 µm, rộng khoảng 20 µm, có vân đồng tâm, rón lệch tâm, hình chấm hay hình vạch của Hoài sơn. Các hạt tinh bột hình trứng dài, hình bầu dục, đường kính 3 µm đến 14 µm, rón hình

khe ngăn, hình chữ Y, đứng riêng lẻ hay kép đôi, kép 3 của Thạch tã. Các khối phân nhánh không đều, không màu, hòa tan trong *dung dịch clorol hydrat (TT)*, các sợi nấm không màu, hơi cong và phân nhánh của Phục linh.

B. Cát kéo bằng hơi nước 10 g hoàn đã nghiền nhỏ và hứng lấy 20 ml dịch cất, lấy 2 ml dịch cất, thêm 0,5 ml *acid benzosulfonic (TT)* đã diazo hóa, 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch natri carbonat (TT)* xuất hiện dần dần màu đỏ da cam.

C. Định tính Thực địa

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 g chế phẩm, tán thành bột thô, nếu là hoàn mềm thì thái nhỏ, chiết bằng cách đun sôi trên cách thủy 15 phút với *methanol (TT)* 2 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp dịch chiết *methanol*, cô trên cách thủy đến cạn. Thêm vào cồn 10 ml *n-butanol (TT)*, đặt lên bếp cách thủy nóng, dùng đũa thủy tinh khuấy kỹ trong 5 phút, gạn lấy dịch chiết butanol. Chiết lại cồn như trên thêm 1 lần nữa. Gộp các dịch chiết butanol, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cồn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1,5 g Thực địa (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, tiến hành chiết như dung dịch thử, bắt đầu từ “chiết bằng cách đun sôi trên cách thủy 15 phút với *methanol (TT)*... Hòa cồn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*”.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 25 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 14 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy ở 120 °C đến khi hiện rõ vết.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

D. Định tính Sơn thù

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - acid formic (5 : 4 : 1).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1,2 g sơn thù đã tán nhỏ, thêm 20 ml *ether ethylic (TT)*, lắc đều, đậy kín, để ngâm 2 giờ, thỉnh thoảng lắc, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cồn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch thử: Lấy 20 g chế phẩm, tán nhỏ, nếu là hoàn mềm thì cắt nhỏ, thêm 40 ml *ether ethylic (TT)*, lắc đều, đậy kín, để ngâm 2 giờ, thỉnh thoảng lắc, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cồn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 25 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm

đến 14 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát vết ở ánh sáng thường hoặc đặt bản mỏng vào bình đã bão hòa hơi *amoniac (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Tư bổ can thận. Chủ trị: Can thận âm hư gây chóng mặt, váng đầu, đau mỏi thắt lưng đầu gối, cốt chung triều nhiệt, đạo hãn về đêm, di tinh, tiêu khát.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần 6 g hoàn cứng, hoàn mềm mỗi lần 1 hoàn, ngày 2 lần.

HOÀN MINH MỤC ĐỊA HOÀNG

Công thức

Thực địa (*Radix Rehmanniae glutinosae*

<i>praeparata</i>)	160 g
Sơn thù (<i>Fructus Corni officinalis</i>)(chế rượu)	80 g
Mẫu đơn bì (<i>Cortex Paeoniae suffruticosae</i>)	60 g
Hoài sơn (<i>Rhizoma Dioscoreae persimilis</i>)	80 g
Phục linh (<i>Poria</i>)	60 g
Trạch tả (<i>Rhizoma Alismatis</i>)	60 g
Câu kỷ tử (<i>Fructus Lycii</i>)	60 g
Cúc hoa vàng (<i>Flos Chrysanthemi indicis</i>)	60 g
Đương quy (<i>Radix Angelicae sinensis</i>)	60 g
Bạch thược (<i>Radix Paeoniae lactiflorae</i>)	60 g
Bạch tật lê (<i>Fructus Tribuli terrestris</i>)	60 g
Thạch quyết minh (nung) (<i>Concha Haliotidis</i>)	80 g
Mật ong vừa đủ (<i>Mel q.s</i>)	

Bào chế

Thực địa, Sơn thù chế theo qui định trong chuyên luận riêng, Thạch quyết minh nung đến khi nghiền được bột mịn. Sau đó Thực địa thái lát mỏng và sấy cùng tất cả các vị thuốc cho đến khô. Nghiền các vị thuốc trên thành bột mịn, trộn đều thành bột kép, rây qua rây số 180. Nếu làm hoàn cứng thì lấy 100 g bột kép thêm 30 g đến 50 g mật luyện và hòa loãng trong lượng nước sôi thích hợp. Nếu làm hoàn mềm, cứ 100 g bột kép dùng 90 g đến 110 g mật luyện sôi, trộn đều cho nhuyễn, làm viên hoàn mềm 9 g.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận “Thuốc hoàn” (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn cứng: Hình cầu cứng, màu đen đến nâu hơi đen, mùi thơm nhẹ của dược liệu, vị ngọt, sau đắng và se.

Hoàn mềm: Hình cầu mềm nhuyễn, màu đen, mùi thơm nhẹ của dược liệu, vị ngọt, sau đắng và se.

Định tính

A. Định tính Hoài sơn, Thạch tả, Bạch linh: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi với độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột mẫu chuẩn của Hoài sơn, Bạch linh và Thạch tả, thấy: Các hạt tinh bột hình chuông, hình trứng, dài 10 µm đến 60 µm, rộng khoảng 20 µm, có vân đồng tâm, rón lệch tâm, hình chấm hay hình vạch. Các hạt tinh bột hình trứng dài, hình bầu dục, đường kính 3 µm đến 14 µm, rón hình khe ngắn, hình chữ Y, đứng riêng lẻ hay kép đôi, kép 3. Các khối phân nhánh không đều, không màu, hòa tan trong dung dịch cloral hydrat (TT), các sợi nấm không màu, hơi cong và phân nhánh.

B. Định tính Thạch quyết minh: Rửa 2 g hoàn trong một cốc có mô với nước, một ít tủa màu trắng hơi xám đọng ở đáy cốc, để lắng, gạn lấy riêng tủa. Thêm 2 giọt dung dịch acid hydrochloric loãng (TT) vào tủa, thấy sủi bọt và giải phóng carbon dioxyd. Khí thoát ra được sục vào dung dịch calci hydroxyd bão hòa (TT) sẽ làm đục dung dịch calci hydroxyd. Thêm 2 ml nước vào cốc trên, khuấy và lọc. Điều chỉnh dịch lọc đến kiềm yếu rồi thêm một giọt dung dịch amoni oxalat 4 % (TT), xuất hiện tủa trắng.

C. Định tính Cúc hoa vàng, Đương quy.

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluene - ethyl acetat (93 : 7).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 10 g chế phẩm, nghiền mịn, thêm 50 ml ethanol (TT), lắc đều, ngâm 1 giờ, thỉnh thoảng lắc (hoặc siêu âm 30 phút), lọc. Nếu là hoàn mềm thì trộn 10 g chế phẩm đã cắt nhỏ với 10 g Kieselguhr, thêm 80 ml ethanol (TT), siêu âm 30 phút, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy tới cạn. Hòa cần trong 1 ml ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Lấy 1 g Cúc hoa vàng (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, thêm 20 ml ethanol (TT), lắc đều, ngâm 1 giờ, thỉnh thoảng lắc siêu âm, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy tới cạn. Hòa cần trong 1 ml ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 1 g Đương quy (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, chiết như đối với dung dịch đối chiếu Cúc hoa vàng.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT). Sấy bản mỏng ở 120 °C cho đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu (1) và (2).

D. Định tính Thực địa: Xem chuyên luận "Hoàn lục vị".

Độ ẩm

Không được quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Tư dưỡng can thận, minh mục. Chủ trị: Phong tà thừa lúc can thận âm hư xâm nhập kết hợp với nhiệt khí công lên mắt gây nên: mắt có màng, chảy nước mắt, đồng tử dẫn nhìn không rõ.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần dùng 1 hoàn mềm hoặc 6 g đến 9 g hoàn cứng, ngày 2 lần.

HOÀN NGÂN KIỂU GIẢI ĐỘC

Công thức

Kim ngân hoa (<i>Flos Lonicerae</i>)	200 g
Liên kiều (<i>Fructus Forsythiae suspensae</i>)	200 g
Bạc hà (<i>Herba Menthae</i>)	120 g
Kinh giới tuệ (<i>Spica Elsholtziae ciliatae</i>)	80 g
Đỗ đen (<i>Semen Vignae cylindricae</i>) chế (đạm đậu xị)	100 g
Ngưu bàng tử (<i>Fructus Arctii lappae</i>) sao	120 g
Cát cánh (<i>Radix Platycodi grandiflori</i>)	80 g
Đạm trúc điệp (<i>Herba Lophatheri</i>)	80 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>)	100 g
Mật ong vừa đủ (<i>Mel q.s</i>)	

Bào chế

Tán Kim ngân hoa và Cát cánh thành bột mịn và rây. Cát lấy tinh dầu Bạc hà và Kinh giới để riêng và thu lấy phần dịch nước vào bình đựng khác. Sắc bã Bạc hà và Kinh giới cùng 5 vị thuốc còn lại bằng nước trong 2 giờ, sắc làm 2 lần, gộp các dịch sắc và lọc. Phối hợp dịch lọc và dịch nước Bạc hà, Kinh giới ở trên, cô đến cao đặc. Thêm bột mịn Kim ngân và Cát cánh, trộn đều, sấy khô, tán thành bột mịn và rây. Phun tinh dầu Bạc hà và Kinh giới vào bột này rồi trộn đều. Cứ 100 g bột kép thêm 80 g đến 90 g mật ong luyện để chế thành hoàn mật 3 g. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn hình cầu, màu nâu, mùi thơm, vị hơi ngọt, đắng và cay. Mỗi hoàn 3 g.

Định tính

A. Soi kính hiển vi: Hạt phần màu vàng, hình cầu, đường kính 54 µm đến 68 µm. Nhiều đám calci oxalat, đường kính 5 µm đến 17 µm, trong mảnh mô mềm có ống nhựa mù nối liền nhau, đường kính 14 µm đến 25 µm, chứa hạt nhỏ, màu vàng nhạt.

B. Định tính Kinh giới, menthol

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi triển khai: n-Hexan - ethyl acetat (17 : 3).

Dung dịch thử: Lấy 4 hoàn, nghiền mịn, thêm 3 g *diatomit*, trộn đều, thêm 20 ml *ether dầu hỏa* (60 °C đến 90 °C) (TT), nút kín, lắc liên tục 15 phút rồi ngâm qua đêm, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến còn khoảng 1 ml dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu (1): Lấy 1 g bột Kinh giới (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ether dầu hỏa* (60 °C đến 90 °C) (TT), chiết như dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan menthol trong *ethanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ 2 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lần lượt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *dung dịch anisaldehyd* (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 10 phút. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết giống với vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu về vị trí và màu sắc.

C. Định tính Liên kiều

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi triển khai: *Cloroform - methanol* (20 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 4 hoàn, nghiền mịn, thêm 3 g *diatomit*, trộn đều, thêm 30 ml *ethanol* (TT), đun hồi lưu 1 giờ, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô. Hòa cồn trong 2 ml *ethanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Liên kiều (mẫu chuẩn), thêm 40 ml nước, ngâm trong cách thủy 1 giờ, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới cạn. Hòa cồn trong 2 ml *ethanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lần lượt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun dung dịch gồm *anhydrid acetic - acid sulfuric* (20 : 1). Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 10 phút, quan sát dưới đèn tử ngoại, bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết huỳnh quang cùng màu và cùng R_f với các vết huỳnh quang trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Định tính Ngưu bàng tử, Cam thảo.

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi triển khai: *Cloroform - methanol* (95 : 5).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử ở phần định tính Liên kiều.

Dung dịch đối chiếu (1): Lấy 1,2 g Ngưu bàng tử (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ethanol* (TT), đun sôi hồi lưu trong cách thủy 1 giờ, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới cạn. Hòa cồn trong 10 ml *ethanol* (TT), lọc được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 1,2 g Cam thảo (mẫu chuẩn), tiến hành như mẫu đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lần lượt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *dung dịch acid sulfuric loãng* (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C cho đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

E. Định tính Kim ngân (hoa)

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi triển khai: *n-Hexan - ethyl acetat* (8 : 2).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử ở phần định tính Liên kiều.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1,2 g hoa Kim ngân (mẫu chuẩn), thêm 10 ml *ethanol* (TT), ngâm trong 2 giờ, thỉnh thoảng lắc. Lọc, lấy dịch lọc cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cồn trong 1 ml *ethanol* (TT) được dung dịch chấm sắc ký.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lần lượt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric* (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C cho đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, trong lọ kín.

Công năng, chủ trị

Tân lương giải biểu, thanh nhiệt giải độc. Chủ trị: Cảm mạo phong nhiệt kèm phát sốt, sợ phong hàn nhức đầu, ho, khô miệng, họng đau.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần 1 hoàn, ngày 2 đến 3 lần, uống với nước sắc Lô căn hoặc nước đun sôi còn ấm.

HOÀN NHỊ TRẦN

Công thức

Trần bì (<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>)	200 g
Bán hạ (<i>Rhizoma Pinelliae</i>)(chế)	200 g
Bạch linh (<i>Poria</i>)	120 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>)	60 g

Bào chế

Bán hạ: Có thể dùng Bán hạ nam (*Typhonium trilobatum*), được chế biến theo chuyên luận riêng.

Trần bì: Bỏ màng trắng, thái chỉ, vi sao, hoặc sao vàng.

Tán bốn vị thuốc trên thành bột mịn, rây qua rây số 355 và trộn đều. Ngoài ra, lấy 50 g Gừng tươi, giã, giã

nát, thêm lượng nước thích hợp, vắt lấy nước. Lấy dịch nước gừng này, cùng với bột thuốc nói trên để bào chế thành hoàn theo phương pháp ghi trong chuyên luận “Thuốc hoàn”.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận “Thuốc hoàn” (Phụ lục 1. 11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn màu nâu tro đến màu nâu vàng; mùi thơm nhẹ; vị ngọt, hơi cay.

Định tính

A. Soi kính hiển vi thấy: Các sợi nấm không màu của Bạch linh, các sợi mang tinh thể calci oxalat của Cam thảo. Các mảnh mạch điểm của Trần bì, các mảnh mạch xoắn của Bán hạ. Có đối chiếu với bột Bạch linh, Cam thảo chuẩn.

B. Lấy 2 g chế phẩm đã nghiền thành bột mịn, cho vào ống nghiệm, thêm 7 ml *ethyl acetat* (TT). Lắc đều. Đun nóng trên cách thủy 5 phút. Lọc, dịch lọc cho vào 3 ống nghiệm nhỏ, mỗi ống 1 ml, phần còn lại để dùng làm dung dịch thử trong sắc ký lớp mỏng.

Ống 1: Thêm ít bột *magnesi* (TT) và cho từ từ *acid hydrochloric* (TT) dọc theo thành ống nghiệm. Xuất hiện màu tím hồng.

Ống 2: Thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT), xuất hiện màu vàng cam.

Ống 3: Thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid* 5 % (TT), xuất hiện màu xanh đen.

C. Định tính Trần bì

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Dùng *Silica gel G* và *dung dịch natri hydroxyd* 0,5 % để tráng bản mỏng.

Dung môi khai triển:

Hệ 1: *Ethyl acetat* - *methanol* - *nước* (100 : 17 : 13).

Hệ 2: *Toluen* - *ethyl acetat* - *acid formic* - *nước* (20 : 10 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột chế phẩm, thêm 30 ml *methanol* (TT), đun hồi lưu trong cách thủy 30 phút, lọc, cô dịch lọc còn khoảng 5 ml làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan hesperidin chuẩn trong *methanol* (TT) để được dung dịch bão hòa.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Triển khai sắc ký với hệ 1 đến khi dung môi đi được 3 cm, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Tiếp tục triển khai sắc ký với hệ 2 đến khi dung môi đi được 8 cm, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Phun dung dịch *nhôm clorid* 1 % [Hòa tan 1 g *nhôm clorid* (TT) trong *ethanol* 96 % (TT) vừa đủ 100 ml] và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết phát quang cùng màu sắc và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Định tính Cam Thảo

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Dùng *Silica gel G* và *dung dịch natri hydroxyd* 1 % để tráng bản mỏng.

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat* - *acid formic* - *acid acetic* bằng - *nước* (15 : 1 : 1 : 2).

Dung dịch thử: Đun hồi lưu 10 g bột chế phẩm với 40 ml *ether* (TT) trong 1 giờ, lọc lấy cặn, thêm 50 ml *methanol* (TT) và đun hồi lưu 1 giờ, lọc, bay hơi dịch lọc đến cặn. Hòa tan cặn trong 40 ml *nước* và chiết bằng *n-butanol* bão hòa *nước* (TT) 3 lần, mỗi lần 20 ml, gộp các dịch chiết butanol, rửa với *nước* 3 lần, mỗi lần 20 ml, bỏ nước rửa, bay hơi dịch chiết đến cặn và hòa tan cặn trong 5 ml *methanol* (TT) làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan amoni glycyrrhizat chuẩn trong *methanol* (TT) để được dung dịch chứa 2 mg/ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 1 g bột rễ Cam thảo (mẫu chuẩn), chiết tương tự dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên.

Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Phun dung dịch *acid sulfuric* 10 % trong *ethanol* (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) và trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết đặt được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 20 g bột chế phẩm, cho vào túi giấy lọc, đặt vào dụng cụ Soxhlet, loại tạp bằng *ether dầu hỏa* (30 °C đến 60 °C) (TT) trong 4 giờ. Sau đó tải bột cho bay hơi hết ether dầu hỏa. Chiết flavonoid trong bình Soxhlet bằng *ethanol* 70 % (TT) cho đến khi hết flavonoid. Thu hồi dung môi dưới áp suất giảm. Thêm 10 ml đến 20 ml *nước cất* nóng vào cặn, khuấy cho tan. Lọc. Lắc dịch lọc với *ethyl acetat* (TT) đến hết flavonoid (5 lần mỗi lần 5 ml). Gộp dịch *ethyl acetat*, cất thu hồi dung môi, cặn thu được cho bay hết *ethyl acetat* rồi đem sấy ở nhiệt độ 70 °C cho tới khối lượng không đổi. Cân cặn và tính kết quả. Hàm lượng flavonoid toàn phần không ít hơn 1,0 %.

Độ ẩm

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.6, sấy ở 60 °C đến 70 °C; 1 g, 4 h).

Bảo quản

Để nơi khô, mát, trong bao bì kín.

Công năng, chủ trị

Táo thấp, trừ đờm, lý khí, hòa vị. Chủ trị: Ho, đờm nhiều, ngực và thượng vị trướng tức, buồn nôn, nôn.

Cách dùng, liều lượng

Uống ngày 2 lần, uống mỗi lần từ 9 g đến 15 g.

HOÀN NINH KHÔN**Ninh khôn chí bảo hoàn****Công thức:**

A giao (<i>Colla Corii Asini</i>)	25 g
Mộc hương (<i>Radix Saussureae lappae</i>)	25 g
Phục linh (<i>Poria</i>)	50 g
Ngưu tất (<i>Radix Achyranthis bidentatae</i>)	200 g
Bạch thược (<i>Radix Paeoniae lactiflorae</i>)	50 g
Ô dược (<i>Radix Linderae</i>)	50 g
Bạch truật (<i>Rhizoma Atractylodis macrocephalae</i>)	50 g
Trần bì (<i>Pericarpium Citri reticulatae perenne</i>)	50 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>)	150 g
Sa nhân (<i>Fructus Amomi</i>)	25 g
Đảng sâm (<i>Radix Codonopsis pilosulae</i>)	40 g
Sinh địa (<i>Radix Rehmanniae glutinosae</i>)	50 g
Đương quy (<i>Radix Angelicae sinensis</i>)	50 g
Thục địa (<i>Radix Rehmanniae glutinosae praeparata</i>)	50 g
Hoàng cầm (<i>Radix Scutellariae</i>)	25 g
Tô diệp (<i>Folium Perillae frutescens</i>)	25 g
Hồ phách (<i>Succinum</i>)	25 g
Trầm hương (<i>Lignum Aquilariae resinatum</i>)	50 g
Hương phụ (<i>Rhizoma Cyperi</i>) chế dấm	50 g
Xuyên khung (<i>Rhizoma Ligustici wallichii</i>)	50 g
Ích mẫu (<i>Herba Leonuri japonici</i>)	300 g
Mật ong và tá dược vừa đủ (<i>Mel et excipient q.s</i>)	1000 g

Bào chế

Đương quy, Ích mẫu, Xuyên khung: đồ chín, thái lát, sao vàng, sấy khô. A giao thái mỏng, sao với vụn cát cho phồng lên. Thục địa, Hương phụ chế theo chuyên luận riêng và sấy khô. Các dược liệu còn lại rửa sạch, loại bỏ tạp chất, thái lát, sấy khô. Tất cả các vị thuốc được tán thành bột mịn, trộn đều thành bột kép, rây qua rây số 180. Trộn bột kép với mật ong luyện cho mềm nhuyển, cứ 100 g bột kép dùng 100 g đến 200 g mật luyện. Chia thành các viên hoàn 3 g.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn hình cầu, màu đen bóng, mềm nhuyển, thơm mùi dược liệu, vị ngọt, hơi đắng và cay. Khối lượng mỗi hoàn 3 g.

Định tính

A. Định tính Bạch linh: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi có độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột Bạch linh, phải thấy: Các khối phân nhánh không đều, không màu, tan trong *dung dịch cloral hydrat* (TT), các sợi nấm không màu hoặc nâu nhạt, hơi cong và phân nhánh.

B. Định tính Mộc hương

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (95 : 5).

Dung dịch thử: Lấy 3 hoàn, cắt nhỏ, thêm 40 ml *ether ethylic* (TT), lắc đều, ngâm trong 4 giờ, thỉnh thoảng lắc, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến cạn. Hòa tan trong 1 ml *ethanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g Mộc hương (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, thêm 10 ml *ether ethylic* (TT), lắc đều, ngâm 4 giờ, thỉnh thoảng lắc, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến cạn. Hòa tan trong 1 ml *ethanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 14 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun dung dịch *vanilin 1 % trong acid sulfuric* (TT), quan sát ở ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Ích mẫu

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: Toluene - acetone - ethanol - amoniac (15 : 15 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 3 hoàn, cắt nhỏ, thêm 100 ml nước cất đã acid hóa bằng *dung dịch acid sulfuric 10 %* (TT) đến pH 2 đến 3, đun sôi nhẹ 1 giờ, để nguội, ly tâm. Kiểm hóa dịch ly tâm bằng *amoniac* (TT) đến pH 10 đến 11, để yên 30 phút, sau đó lắc với *cloroform* (TT) 2 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp dịch chiết *cloroform*, lọc qua *natri sulfat khan* (TT), cô trên cách thủy đến cạn. Hòa lẫn trong 1 ml *ethanol* (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 6 g Ích mẫu (mẫu chuẩn) thêm 150 ml nước cất đã acid hóa bằng *dung dịch acid sulfuric 10 %* (TT) đến pH 2 đến 3, đun sôi nhẹ 1 giờ, để nguội, ly tâm. Kiểm hóa dịch ly tâm bằng *amoniac* (TT) đến pH 10 đến 11, để yên 30 phút, sau đó lắc với *cloroform* (TT) 2 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp dịch chiết *cloroform*, lọc qua *natri sulfat khan* (TT), cô trên cách thủy đến cạn. Hòa lẫn trong 1 ml *ethanol* (TT) được dung dịch đối chiếu.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi đặt vào bình đã bão hòa hơi *iod* (TT), quan sát ở ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6).

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Điều hòa khí huyết, thông kinh chỉ thống. Chủ trị: Phụ nữ kinh nguyệt không đều, hư phiền, hành kinh đau bụng, suy nhược sau khi sinh. Các bệnh thai tiền sản hậu của phụ nữ.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần 2 hoàn, ngày 2 lần.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai hoặc đang hành kinh không nên dùng.

HOÀN PHÌ NHÌ**Công thức:**

Nhục đậu khấu (<i>Semen Myristicae</i>) (nướng)	50 g
Mộc hương (<i>Radix Saussureae lappae</i>)	20 g
Thần khúc (<i>Massa Medicata fermentata</i>) (sao)	100 g
Mạch nha (<i>Fructus Hordei germinatus</i>) (sao)	50 g
Hoàng liên (<i>Rhizoma Coptidis</i>)	100 g
Bình lang (<i>Semen Arecae catechi</i>)	50 g
Sử quân tử (<i>Semen Quisqualis</i>)	50 g
Mật ong vừa đủ (<i>Mel q.s</i>)	

Bào chế

Nhục đậu khấu nướng; Thần khúc, Mạch nha sao vàng. Tán 7 vị thuốc trên thành bột mịn, rây qua rây số 180 và trộn đều thành bột kép. Cứ 100 g bột thuốc thêm 100 g đến 130 g mật ong luyện, trộn đều cho mềm nhuận, chế thành viên hoàn mềm 3 g. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận “Thuốc hoàn” (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn màu nâu hơi đen đến màu nâu đen, mềm nhuyển, mịn vị hơi ngọt đắng.

Khối lượng hoàn 3 g.

Định tính

Soi kính hiển vi: Soi kính hiển vi có độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột Nhục đậu khấu và Sử quân tử (mẫu chuẩn) thấy: Hạt tinh bột gần như tròn hoặc hình bầu dục, đường kính 8 µm đến 10 µm, rốn dạng khe. Các khối inulin hình dáng không đều, đôi khi nhìn thấy các vân nhỏ xuyên tâm. Các giọt dầu có nhiều với tinh thể hình cầu khi để lắng. Các tế bào biểu bì của vỏ ngoài màu hơi vàng, hình nhiều cạnh, thành mỏng và gập lại với tế bào mạng lưới ở bên dưới. Các mạch xoắn, đường kính 14 µm đến 17 µm. Các mảnh nội nhũ không màu, có các tế bào thành dày hơn với nhiều lỗ gần tròn, lớn.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Sát trùng, tiêu tích, kiện tỳ. Chủ trị: Trẻ đau bụng giun, tiêu hoá kém, yếu, nước da xanh xao vàng vọt, kém ăn, bụng trương đầy, tiêu chảy, nóng sốt, hôi miệng.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần 1 hoàn, ngày 2 lần. Trẻ em dưới 3 tuổi giảm liều cho thích hợp.

HOÀN QUY TỶ**Công thức:**

Đảng sâm (<i>Radix Codonopsis pilosae</i>)	80 g
Bạch truật (<i>Radix Atractylodis macrocephalae</i>)	160 g
Hoàng kỳ (<i>Radix Astragali membranacei</i>) chế	160 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>) chích mật	40 g
Phục linh (<i>Poria</i>)	160 g
Viễn chí (<i>Radix Polygalae</i>) chế	16 g
Toan táo nhân (<i>Semen Ziziphi mauritanae</i>)	160 g
Long nhãn (<i>Arillus Longan</i>)	160 g
Đương quy (<i>Radix Angelicae sinensis</i>)	16 g
Mộc hương (<i>Radix Saussureae lappae</i>)	80 g
Đại táo (<i>Frutus Ziziphi jujubae</i>) bỏ hạt	40 g
Mật ong vừa đủ (<i>Mel q.s</i>)	

Bào chế

Các vị thuốc chế theo chuyên luận riêng và sấy khô. Tán 11 vị thuốc thành bột mịn, trộn đều thành bột kép và rây qua rây số 180. Nếu làm hoàn cứng thì lấy 100 g bột kép trên, thêm 25 g đến 40 g mật ong luyện hòa loãng trong lượng nước sôi thích hợp, gây nhân và làm thành viên. Nếu làm hoàn mềm, cứ 100 g bột kép trên, thêm 80 g đến 90 g mật ong luyện sôi, trộn đều cho mềm nhuyển, chia thành các viên 9 g.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận “Thuốc hoàn” (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn cứng: Hình cầu, mùi thơm nhẹ, vị ngọt sau hơi đắng và cay.

Hoàn mềm: Màu nâu, nhuận, mịn, mùi thơm nhẹ, vị ngọt sau hơi đắng và cay. Khối lượng mỗi hoàn 9 g.

Định tính

A. Định tính Hoàng kỳ, Bạch linh: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi có độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột Hoàng kỳ, Bạch linh (mẫu chuẩn) thấy: Sợi thành bó hay rải rác, thành dày với những kẽ nứt dọc trên bề mặt, hai đầu sợi thường bị gãy thành dạng tua như chổi hoặc gãy cụt của Hoàng kỳ. Các khối phân nhánh không đều, không màu, tan trong *dung dịch cloral hydrat* (TT), các sợi nằm không màu, hoặc nâu nhạt, hơi cong và phân nhánh, đường kính 4 µm đến 6 µm của Bạch linh.

B. Định tính Toan táo nhân

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (60 °C đến 80 °C) - ether ethylic - acid acetic (7,5 : 7,5 : 0,15)

Dung dịch thử: Lấy khoảng 30 g chế phẩm, tán hoặc cắt nhỏ (nếu là hoàn mềm), thêm 50 ml *ethanol* (TT), lắc siêu âm 30 phút, lọc lấy dịch chiết. Bã được chiết như trên một lần nữa. Gộp các dịch chiết ethanol, cô trên cách thủy tới gần khô. Khuấy kỹ cặn với *ether dầu hỏa* (60 °C đến 80 °C) (TT) 2 lần, mỗi lần 10 ml.

Gộp dịch ether dầu hòa, bốc hơi trên cách thủy tới cạn. Hòa lẫn trong 1 ml *ethanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2,5 g bột thô Toan táo nhân (mẫu chuẩn) đã giã nhỏ, thêm 20 ml *ethanol* (TT), tiếp tục chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi đặt vào bình đã bão hòa hơi *iod* (TT) cho đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Đương quy

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *n*-Hexan - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 g chế phẩm, tán thành bột thô hoặc cắt nhỏ, thêm 30 ml *ethanol* (TT), lắc kỹ, ngâm 30 phút, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa lẫn trong 1 ml *ethanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1 g bột Đương quy (mẫu chuẩn), thêm 15 ml *ethanol* (TT) rồi tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, soi dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Định tính Đảng sâm

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Cloroform* - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 30 g chế phẩm, tán thành bột thô (hoặc cắt nhỏ nếu hoàn mềm), thêm 50 ml *methanol* (TT), lắc siêu âm 30 phút, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa lẫn trong 1 ml *ethanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1,5 g bột Đảng sâm (mẫu chuẩn), thêm 15 ml *methanol* (TT) rồi tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric* (TT). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Ích khí bổ huyết, kiện tỳ dưỡng tâm. Chủ trị: Tâm tỳ hư, khí huyết hư, biểu hiện: lo sợ, hay quên, đánh trống ngực, hồi hộp, mất ngủ, ngủ mê, hơi thở ngắn, mệt mỏi, kém ăn.

Tỳ không nhiếp huyết: rong kinh, băng huyết, đại tiểu tiện ra huyết, đới hạ.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần 6 g hoàn cứng hoặc 1 hoàn mềm, ngày 3 lần. Uống với nước ấm hoặc nước gừng tươi.

HOÀN SÂM NHUNG BỔ THẬN

Công thức:

Ba kích (<i>Radix Morindae officinalis</i>)	30 g
Hà thủ ô đỏ (<i>Radix Fallopia multiflora</i>)	29 g
Bách hợp (<i>Bulbus Lilii</i>)	30 g
Nhân sâm (<i>Radix Ginseng</i>)	3,6 g
Bạch linh (<i>Poria</i>)	29 g
Nhục thung dung (<i>Herba Cistanches</i>)	12 g
Bạch truật (<i>Rhizoma Atractylodis macrocephalae</i>)	18 g
Nhung hươu (<i>Cornu Cervi pantotrichum</i>)	1,2 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>)	2,5 g
Hạt sen (<i>Semen Nelumbinis nucifecae</i>)	44 g
Cao ban long (<i>Colla Cornus Cervi</i>)	3,6 g
Thỏ ty tử (<i>Semen Cuscutae</i>)	20 g
Câu kỷ tử (<i>Fructus Lycii</i>)	20 g
Thục địa (<i>Radix Rehmanniae glutinosae praeparata</i>)	120 g
Cẩu tích (<i>Rhizoma Ciboitii</i>)	15 g
Trạch tả (<i>Rhizoma Alismatis</i>)	15 g
Củ mài (<i>Tuber Dioscoreae persimilis</i>)	38 g
Tục đoạn (<i>Radix Dipsaci</i>)	29 g
Đảng sâm (<i>Radix Codonopsis pilosulae</i>)	12 g
Xuyên khung (<i>Rhizoma Ligustici wallichii</i>)	15 g
Đỗ trọng (<i>Cortex Eucommiae</i>)	12 g
Viễn chí (<i>Radix Polygalae</i>)	8 g
Đương quy (<i>Radix Angelicae sinensis</i>)	20 g
Mật ong vừa đủ làm hoàn mềm (<i>Mel q.s</i>)	

Bào chế

Bào chế cổ truyền: Ba kích (Diêm Ba kích nhục), Hà thủ ô (Chế Hà thủ ô), Phục linh, Bạch truật (Sao bạch truật), Cam thảo (Chích Cam thảo), Cẩu tích, Trạch tả (Diêm Trạch tả), Củ mài, Tục đoạn, Đỗ trọng (Diêm Đỗ trọng), Viễn chí (Viễn chí chế), Đương quy (Từ Đương quy) chế theo các chuyên luận riêng. Bách hợp rửa sạch, sấy khô ở nhiệt độ dưới 60 °C. Nhân sâm thái mỏng, sấy khô ở nhiệt độ dưới 60 °C. Nhục thung dung rửa sạch bằng nước phen, ngâm nước 3 giờ cho sạch muối, hấp chín, thái mỏng, sấy khô ở nhiệt độ dưới 60 °C. Nhung hươu hơ cháy lông trên ngọn lửa, cạo sạch thái lát nhỏ, nghiền nhỏ. Hạt sen loại bỏ vỏ sấy khô. Thỏ ty tử rửa sạch thêm rượu trắng bằng 1/2

lượng dược liệu cho thấm đều, nấu nhỏ lửa cho cạn hết rượu, hạt phồng lên, bề mặt có màu vàng nâu, có mùi thơm. Đàng sâm loại bỏ tạp chất, rửa sạch, hấp chín, thái đoạn, sấy khô ở nhiệt độ dưới 60 °C. Xuyên khung rửa sạch hoặc đồ mềm, thái lát, phơi se, tẩm rượu (lượng rượu bằng 1/10 lượng dược liệu), sấy khô ở nhiệt độ dưới 60 °C. Mật ong cô luyện thành châu.

Bào chế hoàn mật: Tất cả các vị thuốc sau khi chế khô, tán thành bột mịn, rây qua rây số 180. Trộn đều thành bột kếp. Trộn đều bột kếp với mật ong, cao ban long, theo tỷ lệ 100 : 120. Chia thành các viên hoàn mềm. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận “Thuốc hoàn” (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn hình cầu, màu đen nhánh, đồng nhất, mềm nhuyển, mịn, mùi thơm đặc trưng, vị ngọt hơi đắng. Khối lượng 9 g.

Định tính

A. Định tính Hạt sen, Bạch linh và Củ mài: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi với độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột Hạt sen, Bạch linh và Củ mài (mẫu chuẩn), phải thấy: Các hạt tinh bột hình chuông, hình trứng, dài 10 µm đến 60 µm, rộng khoảng 20 µm, có vân đồng tâm, rón lệch tâm, hình chấm hay hình vạch của Củ mài. Hạt tinh bột hình trứng, hình bầu dục rộng 2 µm đến 6 µm, dài 4 µm đến 14 µm hoặc hình tròn có đường kính 2 µm đến 19 µm, rón phân nhánh, vân không rõ của Hạt sen. Sợi nấm không màu hay nâu nhạt, hơi khúc khuỷu, phân nhánh của Bạch linh.

B. Định tính Thực địa

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Chloroform - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 20 g chế phẩm, cắt nhỏ, chiết bằng cách đun sôi trên cách thủy 15 phút với methanol (TT) 2 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp dịch chiết methanol, cô trên cách thủy đến cạn. Thêm vào cồn 10 ml n-butanol (TT), đặt lên bếp cách thủy nóng, dùng thìa thủy tinh khuấy kỹ trong 5 phút, gạn lấy dịch chiết butanol. Chiết lại cồn như trên thêm 1 lần nữa. Gộp các dịch chiết butanol, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cồn trong 1 ml ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Thực địa (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, tiến hành chiết như dung dịch thử, bắt đầu từ "chiết bằng cách đun sôi trên cách thủy 15 phút với methanol (TT).... Hòa cồn trong 1 ml ethanol (TT)".

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 14 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT), sấy ở 120 °C đến khi hiện rõ vết.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Đường qui

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g chế phẩm, cắt nhỏ (hoặc nghiền mịn), thêm 30 ml ether ethylic (TT), lắc 30 phút, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến khô cạn. Hòa cồn trong 1 ml ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Đường qui (mẫu chuẩn), thêm 20 ml ether ethylic (TT), lắc 30 phút, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến khô cạn. Hòa cồn trong 1 ml ethanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6).

Công năng, chủ trị

Bổ thận, cố tinh. Chủ trị: Thận hư, phòng sự yếu, di mộng tinh, kinh nguyệt không đều, khí hư bạch đới, đau thắt lưng, mỏi gối, ù tai.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần uống 1 hoàn mềm, ngày dùng 2 lần.

Kiêng kỵ

Không nên dùng thuốc trong trường hợp ngoại cảm, kiết lỵ. Kiêng các chất cay, nóng, chất kích thích.

HOÀN THẬP TOÀN ĐẠI BỔ

Công thức

Đàng sâm (<i>Radix Codonopsis pilosulae</i>)	150 g
Bạch truật (<i>Radix Atractylodis macrocephalae</i>)	100 g
Phục linh (<i>Poria</i>)	80 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>)	80 g
Đương quy (<i>Radix Angelicae sinensis</i>)	100 g
Xuyên khung (<i>Rhizoma Ligustici wallichii</i>)	80 g
Bạch thược (<i>Radix Paeoniae lactiflorae</i>)	100 g
Thực địa (<i>Radix Rehmanniae glutinosae praeparata</i>)	150 g
Hoàng kỳ (<i>Radix Astragali membranacei</i>)	150 g
Quế nhục (<i>Cortex Cinnamomi</i>)	100 g
Mật ong vừa đủ (<i>Mel q.s</i>)	

Bào chế

Bạch truật sao vàng, Bạch thược chế rượu, Cam thảo chích mật, Hoàng kỳ tẩm mật theo qui định trong các chuyên luận riêng. Sau đó, Thực địa thái lát và sấy khô cùng các vị còn lại, nghiền thành bột mịn, trộn đều thành bột kếp và rây qua rây số 180. Nếu làm hoàn cứng

thì lấy 100 g bột kếp thêm 30 g đến 50 g mật luyện và hòa loãng trong lượng nước sôi thích hợp và làm hoàn cứng. Nếu làm hoàn mềm, cứ 100 g bột kếp dùng 100 g đến 120 g mật luyện sôi, trộn đều cho mềm nhuyễn, làm viên hoàn mềm 9 g.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn hình cầu, màu nâu đến nâu đen, mùi thơm, vị ngọt sau hơi đắng cay.

Định tính

A. Định tính Phục linh, Quế và Hoàng kỳ: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi có độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột Phục linh, bột Quế và bột Hoàng kỳ (mẫu chuẩn) thấy các khối phân nhánh không đều, không màu, tan trong *dung dịch cloral hydrat (TT)*, các sợi nấm không màu hoặc nâu nhạt, hơi cong và phân nhánh của Phục linh. Các tế bào mô cứng màu vàng nâu, đứng riêng lẻ hay tụ thành đám, hình trái xoan hay hình chữ nhật với màng rất dày khoang rộng có ống trao đổi rõ, một số tế bào có thành mỏng về một phía của Quế. Sợi thành bó hay rải rác, thành dày với những kẽ nứt dọc trên bề mặt, hai đầu sợi thường bị gãy thành dạng tua như chổi hoặc gãy cụt của Hoàng kỳ.

B. Định tính Bạch thược

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid acetic - acid formic - nước (10 : 1 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Nghiền 12 g hoàn với 6 g Kieselguhr, thêm 80 ml *ethanol (TT)*, lắc siêu âm 20 phút, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn khô, hòa tan cạn khô trong 20 ml *nước*, lọc qua bông. Lắc dịch lọc với *n-butanol (TT)* bão hòa nước 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết butanol, rửa bằng 20 ml *nước*, gạn bỏ nước rửa. Bốc hơi dịch chiết butanol trên cách thủy đến khô. Hòa tan cạn trong *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan paeoniflorin chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 2 mg/ml. Nếu không có paeoniflorin, lấy 2 g bột thô Bạch thược (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ethanol (TT)*, lắc siêu âm 20 phút, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn khô, hòa tan cạn khô trong 20 ml *nước*, lọc qua bông. Lắc dịch lọc với *n-butanol* bão hòa nước (TT) 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết butanol, rửa bằng 20 ml *nước*, gạn bỏ nước rửa. Bốc hơi dịch chiết butanol trên cách thủy đến khô. Hòa tan cạn trong *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*.

Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi các vết xuất hiện. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Đảng sâm

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 8 g hoàn, nghiền nhỏ, nếu là hoàn mềm thì cắt nhỏ, thêm 30 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi trên cách thủy 30 phút, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Khuấy kỹ cặn với *n-butanol (TT)* 3 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết butanol, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cặn trong 5 ml *ethanol (TT)*, thêm 30 ml *dung dịch acid sulfuric 20 % (TT)*, đun sôi hồi lưu trong 2 giờ, để nguội, lọc lấy tủa, rửa bằng *nước cất* cho hết phản ứng acid, sấy khô ở 70 °C. Thêm vào tủa 20 ml *cloroform (TT)*, đun trên cách thủy nóng, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cặn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Đảng sâm (mẫu chuẩn) đã tán nhỏ, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)* và chiết như dung dịch thử, bắt đầu từ "đun sôi trên cách thủy 30 phút... Hòa cặn trong 1 ml *ethanol (TT)*".

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy ở 110 °C cho đến khi các vết xuất hiện. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Định tính Đương qui

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g chế phẩm, cắt nhỏ (hoặc nghiền mịn), thêm 30 ml *ether ethylic (TT)*, lắc 30 phút, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến khô cạn. Hòa cặn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Đương qui (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ether ethylic (TT)*, lắc 30 phút, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến khô cạn. Hòa cặn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

E. Định tính Thục địa

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 20 g chế phẩm, cắt nhỏ cho vào cốc có mỏ. Thêm 20 ml *n*-butanol (TT), lắc kỹ (chiết 2 lần), lấy dịch chiết *n*-butanol, cô cạn tới cạn. Hòa tan cần trong 1 ml ethanol 96 % (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 20 g Thực địa (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ hoặc nghiền mịn, tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT), sấy ở 105 °C đến khi hiện rõ vết.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm (Phụ lục 9.6)

Hoàn cứng: Không quá 12,0 %.

Hoàn mềm: Không quá 15,0 %.

Độ rã (Phụ lục 11.6)

Không quá 1 giờ (Chỉ áp dụng cho hoàn cứng).

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Ôn bổ khí huyết. Chủ trị: Khí huyết bất túc, hư lao, ho khan, ăn kém, di tinh, thất lưng đau gối yếu, vết thương lâu lành; phụ nữ băng, rong kinh.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần uống 6 g hoàn cứng hoặc 1 hoàn mềm, ngày dùng 2 đến 3 lần.

HOÀN THIÊN VƯƠNG BỔ TÂM

Công thức

Đan sâm (<i>Radix Salviae miltiorrhizae</i>)	25 g
Huyền sâm (<i>Radix Scrophulariae</i>)	25 g
Đương quy (<i>Radix Angelicae sinensis</i>)	100 g
Viễn chí (<i>Radix Polygalae</i>) chế	25 g
Toan táo nhân (<i>Semen Ziziphi mauritanae</i>) sao	100 g
Đảng sâm (<i>Radix Codonopsis pilosulae</i>)	25 g
Bá tử nhân (<i>Semen Platycladi orientalis</i>)	25 g
Bạch linh (<i>Poria</i>)	25 g
Cát cánh (<i>Radix Platycodi grandiflori</i>)	25 g
Ngũ vị tử (<i>Fructus Schisandrae</i>)	50 g
Mạch môn (<i>Radix Ophiopogonis japonici</i>)	100 g
Chu sa (<i>Cinnabaris</i>)	10 g
Thiên môn đông (<i>Radix Asparagi cochinchinensis</i>)	100 g
Sinh địa (<i>Radix Rehmanniae glutinosae</i>)	200 g
Mật ong (<i>Mel</i>) vđ	

Bào chế

Viễn chí (chế), Toan táo nhân (sao) theo qui định trong chuyên luận riêng. Thủy phi Chu sa đạt yêu cầu

thành bột rất mịn. Sấy khô và tán các vị thuốc còn lại thành bột mịn qua rây số 180. Trộn thật đều các vị với Chu sa theo nguyên tắc đồng lượng, rây. Nếu làm hoàn cứng thì lấy 100 g bột thuốc, thêm 20 g đến 30 g mật ong đã tinh chế với một lượng nước thích hợp. Nếu làm hoàn mềm thì lấy 100 g bột thuốc, thêm 50 g đến 70 g mật ong đã luyện thành châu.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn cứng màu đen hơi nâu.

Hoàn mềm màu đen nâu, mùi thơm nhẹ, vị ngọt, hơi đắng.

Định tính

A. Định tính Bạch linh, Cam thảo, Mạch môn

Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi có độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột của mẫu chuẩn Bạch linh, Ngũ vị tử, Cam thảo, Mạch môn thấy: Những khối không màu, phân nhánh không đều, tan trong dung dịch cloral hydrat (TT), sợi nấm không màu hoặc nâu nhạt, đường kính 4 µm đến 6 µm của Bạch linh. Tế bào đá hình thoi hoặc hình nhiều góc với một đầu hơi nhọn và màng dày hơn, có những hố xếp rải rác. Tế bào đá màu nâu vàng nhạt hoặc không màu, hình chữ nhật nhỏ, tròn nhỏ, hay không đều, đường kính khoảng 94 µm. Tế bào đá hình chữ nhật hoặc hình dài dài, đường kính 50 µm đến 110 µm với nhiều hố nhỏ. Tế bào đá của vỏ biểu bì màu nâu vàng nhạt, nhìn theo bề mặt có hình đa diện nhỏ, màng dày có kênh lỗ dày đặc, khoang chứa chất màu nâu thẫm của Ngũ vị tử. Tinh thể calci oxalat hình kim tự thành bó hoặc rải rác, dài 24 µm đến 50 µm, đường kính khoảng 3 µm của Mạch môn. Các bó sợi được bao quanh bởi các tế bào mô mềm chứa các tinh thể calci oxalat hình lăng trụ tạo thành sợi tinh thể của Cam thảo.

B. Định tính Chu sa: Rửa 1 g hoặc 1/2 viên hoàn bằng nước, sẽ thu được một lượng nhỏ tủa màu đỏ son. Lấy tủa ra, tắm ướt bằng acid hydrochloric (TT) và cọ lên bề mặt nhẵn của một miếng đồng, thấy xuất hiện màu lấp lánh trắng bạc. Màu này sẽ mất đi khi hơi nóng hoặc nung.

D. Định tính Đương Qui

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: *n*-hexan - ethyl acetat (9 : 1)

Dung dịch thử: Lấy 10 g chế phẩm, tán thành bột thô hoặc cắt nhỏ, thêm 30 ml ether ethylic (TT), lắc trên máy lắc 30 phút, lọc lấy dịch chiết. Chiết như trên thêm một lần nữa. Gộp các dịch chiết ether, để bay hơi tự nhiên đến khô. Hòa cần trong 1 ml ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 0,5 g bột Đương qui (mẫu chuẩn), thêm 15 ml ether ethylic (TT) rồi tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai

sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, soi dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độc tính bất thường

Thử theo Phụ lục 13.5. Lấy 3,2 g bột viên, thêm 10 ml nước cất, nghiền nhuyễn và lắc đều. Cho chuột uống với liều 1 ml/chuột.

Bảo quản

Để nơi khô mát, trong bao bì kín.

Công năng, chủ trị

Tư âm dưỡng huyết, bổ tâm an thần. Chủ trị: Âm huyết bất túc, hồi hộp, hay quên, tâm phiền mất ngủ, ngủ hay mê, táo bón.

Cách dùng, liều lượng

Uống một ngày hai lần, mỗi lần 6 g đến 9 g hoàn.

HOÀN TIÊU DAO

Công thức

Sài hồ (<i>Radix Bupleuri</i>)	100 g
Đương quy (<i>Radix Angelicae sinensis</i>)	100 g
Bạch thược (<i>Radix Paeoniae lactiflorae</i>)	100 g
Bạch truật (<i>Rhizoma Atractylodis macrocephalae</i>) sao	100 g
Bạch linh (<i>Poria</i>)	100 g
Cam thảo (<i>Radix Glycyrrhizae</i>) chích mật	80 g
Bạc hà (<i>Herba Menthae</i>)	20 g
Gừng tươi (<i>Rhizoma Zingiberis</i>)	100 g

Bào chế

Cam thảo và Bạch truật chế theo chuyên luận riêng. Các vị thuốc còn lại làm sạch và sấy khô. Nghiền tất cả các vị thuốc thành bột mịn, trộn đều thành bột kếp và rây qua rây số 180. Lấy 100 g Gừng tươi, rửa sạch, thái lát, sắc với nước vài lần, lọc. Gây nhân làm hoàn cứng với tá dược dính là nước sắc gừng và sấy khô.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn cứng có màu nâu tới màu nâu hơi vàng, vị ngọt hơi cay.

Định tính

A. Định tính Bạch linh, Cam thảo: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi với độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột Bạch linh và Cam thảo (mẫu chuẩn), chế phẩm phải có các khối phân nhánh không đều, không màu, hòa tan trong *dung dịch cloral hydrat* (TT), sợi nấm không màu hay nâu nhạt, hơi cong và phân nhánh của Bạch linh; các bó sợi mang tinh thể calci oxalat hình lăng trụ của Cam thảo.

B. Định tính Đương quy

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g chế phẩm đã tán thành bột mịn, thêm 30 ml *ether ethylic* (TT), lắc trên máy lắc 30 phút, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến cạn khô. Hòa lẫn trong 1 ml *ethanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Đương quy (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ether ethylic* (TT), lắc trên máy lắc 30 phút, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến cạn khô. Hòa lẫn trong 1 ml *ethanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, soi dưới đèn tử ngoại, bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Bạch thược

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid acetic - acid formic - nước (10 : 1 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 g hoàn đã nghiền mịn, thêm 80 ml *ethanol* (TT), lắc siêu âm 20 phút, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn khô, hòa tan cần trong 20 ml *nước*, chiết bằng *n-butanol* (TT) bão hòa nước 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết butanol, rửa bằng *nước* 3 lần, mỗi lần 15 ml, gạn bỏ nước rửa. Bốc hơi dịch chiết còn lại trên cách thủy đến cạn khô. Hòa tan cần trong *ethanol* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột thô Bạch thược (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ethanol* (TT), lắc siêu âm 20 phút, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn, hòa tan cần trong 20 ml *nước*, chiết bằng *n-butanol* (TT) bão hòa nước 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết butanol, rửa bằng *nước* 3 lần, mỗi lần 15 ml, gạn bỏ nước rửa. Bốc hơi dịch chiết còn lại trên cách thủy đến cạn khô. Hòa tan cần trong *ethanol* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric* (TT). Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi các vết xuất hiện. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ẩm.

Công năng, chủ trị

Sơ can, kiện tỳ. Chủ trị: Can khí uất tỳ hư gây nên ngực, sườn đau trướng, hoa mắt, chóng mặt, kém ăn, rối loạn kinh nguyệt.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần 6 g đến 9 g hoàn, ngày 1 đến 2 lần.

MỤC LỤC TRA CỨU

Theo tên Việt Nam

A

- Acetaldehyd (TT), PL-35
 Acetazolamid, 3
 Aceton (TT), PL-35
 Acetonitril (TT), PL-35
 Acetonitril dùng trong phương pháp quang phổ (TT), PL-35
 Acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký (TT), PL-35
 Acetyl clorid (TT), PL-35
 Acetylcystein, 4
 Acetyltyrosin ethyl ester (TT), PL-35
 Aciclovir, 7
 Acid acetic (TT), PL-35
 Acid acetic băng (TT), PL-35
 Acid acetic khan (TT), PL-35
 Acid acetic loãng (TT), PL-35
 Acid acetylsalicylic, 10
 Acid (4-aminobenzoyl)-L-glutamic (TT), PL-36
 Acid 4-[[[(2-amino-4-oxo-1,4-dihydropteridin-6-yl)methyl]amino]benzoic (TT), PL-39
 Acid 4-aminobenzoic (TT), PL-35
 Acid 3-aminomethylalirazin-N,N-diacetic (TT), PL-36
 Acid 8-aminonaphthalen-2-sulfonic (TT), PL-36
 Acid 8-amino-2-naphthalensulfonic (TT), PL-36
 Acid aminomethylalirazindiacetic (TT), PL-36
 Acid ascorbic, 12
 Acid benzoic, 15
 Acid L-ascorbic, 12 -
 Acid benzoic (TT), PL-36
 Acid boric, 16
 Acid boric (TT), PL-36
 Acid citric (TT), PL-36
 Acid citric ngâm 1 phần tử nước, 17
 Acid cloroauric (TT), PL-79
 Acid cloroplatinic (TT), PL-36
 Acid cromic (dung dịch) (TT), PL-36
 Acid cyclohexylenedinitrilotetra-acetic (TT), PL-36
 Acid 3-cyclohexylpropionic (TT), PL-36
 Acid ($\pm$)-trans-1,2-diaminocyclohexan-N,N,N',N'-tetra-acetic (TT), PL-36
 Acid 2-(2,7-Dicloro-6-hydroxy-3-oxo-3H-xanthen-9-yl) benzoic (TT), PL-81
 Acid 2-(4-dimethylaminophenylazo)benzoic (TT), PL-81
 Acid dodecamolybdophosphoric (TT), PL-38
 Acid ethylenedinitrilotetra-acetic (TT), PL-36
 Acid 2-ethylhexanoic (TT), PL-36
 Acid 2-ethylhexoic (TT), PL-36
 Acid fluofenamic (TT), PL-37
 Acid folic, 18
 Acid formic (TT), PL-37
 Acid formic khan (TT), PL-37
 Acid hydrocloric, 21
 Acid hydrocloric (TT), PL-37
 Acid hydrocloric brom hóa (TT), PL-37
 Acid hydrocloric đậm đặc (TT), PL-37
 Acid hydrocloric không có kim loại nặng (TT), PL-37
 Acid hydrocloric loãng, 21
 Acid mefenamic, 22
 Acid mercaptoacetic (TT), PL-37
 Acid 4-methylbenzensulfonic (TT), PL-40
 Acid nalidixic, 24
 Acid 1-naphthy-lamin-7-sulfonic (TT), PL-36
 Acid nicotinic, 26
 Acid nitric (TT), PL-37
 Acid nitric bốc khói (TT), PL-38
 Acid nitric đậm đặc (TT), PL-37
 Acid nitric không có cadmi và chì (TT), PL-38
 Acid nitric không có chì (TT), PL-38
 Acid nitric không có kim loại nặng (TT), PL-38
 Acid nitric loãng (TT), PL-38
 Acid orthophosphoric (TT), PL-39
 Acid oxalic (TT), PL-38
 Acid percloric (TT), PL-38
 Acid phosphomolybdic (TT), PL-38
 Acid phosphoric (TT), PL-39
 Acid phosphoric đậm đặc (TT), PL-39
 Acid picric (TT), PL-39
 Acid pterioic (TT), PL-39
 Acid salicylic, 27
 Acid salicylic (TT), PL-39
 Acid selenic (TT), PL-39
 Acid silicotungstic (TT), PL-39
 Acid silicowolframic (TT), PL-39
 Acid sulfamic (TT), PL-39
 Acid sulfanilic (TT), PL-39
 Acid sulfosalicylic (TT), PL-40
 Acid sulfuric (TT), PL-40
 Acid sulfuric đậm đặc (TT), PL-40
 Acid sulfuric không có kim loại nặng (TT), PL-40
 Acid sulfuric không có nitrogen (TT), PL-40
 Acid sulfuric loãng (TT), PL-40
 Acid tanic (TT), PL-74
 Acid tartic (TT), PL-40
 Acid thioglycolic (TT), PL-37
 Acid toluensulfonic (TT), PL-40
 Acid toluen-p-sulfonic (TT), PL-40
 Acid triclboroacetic (TT), PL-40
 Actisô (Lá), 681
 Adrenalin, 28
 Adrenalin acid tartrat, 29
 Adrenalin tatrat, 29
 Agar agar (TT), PL-75
 Albendazol, 31
 Alcol amylic (TT), PL-41
 Alcol isoamylic (TT), PL-41
 Alcol khan, 264
 Alcol methylic (TT), PL-63
 Alcol tuyệt đối, 264

Alimemazin tartrat, 33
Alizarin đỏ S (TT), PL-41
Alizarin S (TT), PL-41
Alopurinol, 35
Alverin citrat, 37
Amaranth S (TT), PL-41
Amikacin, 39
1-Aminonaphthalen (TT), PL-63
4-Aminophenazon (TT), PL-41
1-Amino-4-(phenylamino)anthracen-9,10-dion (TT), PL-70
Aminophylin, 42
3-Aminopropanol (TT), PL-41
3-Aminopropan-1-ol (TT), PL-41
Aminopyrazolon (TT), PL-41
Amitriptylin hydroclorid, 44
Amlodipin besilat, 46
Amoni acetat (TT), PL-41
Amoni carbonat (TT), PL-41
Amoni ceri sulfat (TT), PL-41
Amoni clorid, 47
Amoni clorid (TT), PL-41
Amoni dihydrophosphat (TT), PL-41
Amoni metavanadat (TT), PL-43
Amoni molybdat (TT), PL-42
Amoni oxalat (TT), PL-42
Amoni persulfat (TT), PL-42
Amoni phosphat (TT), PL-42
Amoni pyrrolidin dithiocarbamat (TT), PL-42
Amoni sắt (III) sulfat (TT), PL-84
Amoni sulfamat (TT), PL-42
Amoni sulfat (TT), PL-42
Amoni sulfocyanid (TT), PL-42
Amoni tetramethylen dithiocarbamat (TT), PL-42
Amoni thiocyanat (TT), PL-42
Amoni vanadat (TT), PL-43
Amoniac (TT), PL-43
Amoniac đậm đặc (TT), PL-43
Amoniac 13,5 M (TT), PL-43
Amoniac 18 M (TT), PL-43
Amoxicilin trihydrat, 48
Amphotericin B, 53
Ampicilin, 54
Ampicilin natri, 55
Ampicilin trihydrat, 58
An toàn đặc hiệu vắc xin BCG, PL-324
An tức hương, 708
Anhydrid acetic (TT), PL-43
Anhydrid maleic (TT), PL-43
Anhydrid propionic (TT), PL-43
Anilin (TT), PL-43
Anisaldehyd (TT), PL-43
Antimony triclорid (TT), PL-44
Aralen, 186
Arsen trioxyd (TT), PL-44
Artemether, 60

Artemisinin, 63
Artesunat, 65
Aspartam, 69
Aspirin, 10
Atenolol, 71
Atropin sulfat, 73
Azithromycin, 76

B

B.A.L, 228
Ba kích (Rễ), 682
Bacitracin, 78
Bá tử nhân, 683
Bạc hà, 684
Bạc nitrat, 83
Bạc nitrat (TT), PL-44
Bạc oxyd (TT), PL-44
Bạc vitelinat, 83
Bách bộ (Rễ), 685
Bách hợp (Thân hành), 687
Bách biến đầu, 757
Bách cập (Thân rễ), 688
Bách chỉ (Rễ), 688
Bách cương tâm, 889
Bách đậu khấu (Quả), 689
Bách giới tử, 690
Bách hoa xà thiệt thảo, 691
Bách linh, 862
Bách mai, 830
Bách mao căn, 722
Bách sừ, 695
Bách tật lê (Quả), 692
Bách thược (Rễ), 692
Bách truat (Thân rễ), 693
Bài hương thảo, 808
Bán biên tô, 808
Bán hạ (Thân rễ), 694
Bán hạ bắc, 694
Bảng nguyên tử lượng các nguyên tố, PL-375
Băng thạch, 893
Barbital (TT), PL-44
Barbital natri (TT), PL-44
Barbiton (TT), PL-44
Barbiton natri (TT), PL-44
Bari clorid (TT), PL-44
Bari hydroxyd (TT), PL-44
Bari sulfat, 81
Bari sulfat pha hỗn dịch, 82
Basic red 5 (TT), PL-82
Basic violet 10 (TT), PL-72
Benzalkonium clorid, 84
Benzathin benzylpenicilin, 85
Benzen (TT), PL-44

Benzen-1,3-diol (TT), PL-72
 Benzen-1,4-diol (TT), PL-56
 Benzen-1,2-diol (TT), PL-72
 Benzen-1,3,5- triol (TT), PL-71
 Benzen-1,2,3-triol (TT), PL-72
 Benzil (TT), PL-44
 Benzophenon (TT), PL-45
 1,4-Benzoquinon (TT), PL-45
 4,4' - (3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden) bis (2,6-dibromo-phenol) S,S-dioxyd (TT), PL-85
 4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden)bis(6-bromo-o-cresol) S,S-dioxyd (TT), PL-82
 4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden) bis (2,6-dibromo-m-cresol) S,S-dioxyd (TT), PL-82
 4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden) bis (2-bromothy) (TT), PL-85
 4,4'-(3H-2,1-benzoxathiol-3-yliden) di-o-cresol S,S-dioxyd (TT), PL-81
 4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden) diphenol S,S-dioxyd (TT), PL-81
 Benzoyl clorid (TT), PL-45
 Benzylpenicilin kali, 87
 Benzylpenicilin natri, 89
 Bèo cái, 749
 Berberin clorid, 91
 Betamethason, 93
 Betamethason dipropionat, 96
 Betamethason valerat, 98
 BHT (TT), PL-46
 Bìm bìm biếc (Hạt), 695
 Bình vôi, 696
 Biosubtyl, 645
 Biotin, 100
 Bisacodyl, 101
 3,3-Bis (4-hydroxy-5-isopropyl-2-methylphenyl) phthalid (TT), PL-84
 Bismuth nitrat base (TT), 45
 Bismuth oxynitrat (TT), PL-45
 Bismuth subnitrat (TT), PL-45
 Borax (TT), PL-68
 Boron triclорid (TT), PL-45
 Boron trifluorid (TT), PL-45
 Bơm tiêm vô khuẩn bằng chất dẻo sử dụng một lần, PL-372
 Bò bò, 697
 Bò công anh, 699
 Bỏ chính sâm, 877
 Bỏ cốt chỉ (Quả), 700
 Bộ dây truyền dịch, PL-368
 Bồi mẫu (Thân hành), 701
 Bồng bồng, 808
 Bông hút nước tiết khuẩn, 104
 Bông hút nước, 103
 Bông sứ, 746

Bông tằm chì acetat (TT), PL-47
 Bột bình vị, 941
 Bột bó, 104
 Bột pha tiêm Amoxicilin, 52
 Bột pha tiêm Ampicilin, 57
 Bột pha tiêm Artesunat, 67
 Bột pha tiêm Benzathin benzylpenicilin, 87
 Bột pha tiêm Benzylpenicilin, 90
 Bột pha tiêm Cefazolin, 135
 Bột pha tiêm Cefotaxim, 140
 Bột pha tiêm Ceftriaxon, 146
 Bột pha tiêm Cloramphenicol, 184
 Bột pha tiêm Streptomycin, 577
 Bột pha tiêm Vinblastin sulfat, 632
 Bột pha tiêm Vincristin sulfat, 634
 Bột talc, 104
 Brom (TT), PL-45
 Bromelain (TT), PL-45
 Bromhexin hydroclorid, 107
 Butan-1-ol (TT), PL-45
 Butan-2-on (TT), PL-45
 Butanol (TT), PL-45
 n-Butanol (TT), PL-45
 Butyl acetat (TT), PL-45
 Butyl clorid (TT), PL-47
 n-Butylamin (TT), PL-45
 Butyl hydroxytoluen (TT), PL-46
 Butylamin (TT), PL-45

C

Cà độc dược (Hoa), 701
 Cà độc dược (Lá), 703
 Cá ngựa, 704
 Các chất chỉ thị, PL-80
 Các chất đối chiếu (ĐC), PL-105
 Các cơ quan và đơn vị tham gia xây dựng Dược điển Việt Nam IV, xxiii
 Các cộng tác viên, xxi
 Các dung dịch chuẩn độ (CĐ), PL-86
 Các dung dịch đệm, PL-92
 Các dung dịch mẫu, PL-100
 Các kỹ thuật tách sắc ký, PL-119
 Các phản ứng định tính, PL-164
 Các phép thử của tinh dầu, PL-235
 Các phụ lục, PL-1
 Các phương pháp tiết khuẩn, PL-354
 Các thuốc thử chung, PL-35
 Cafein, 109
 Cải củ (Hạt), 704
 Calcein (TT), PL-46
 Calci carbonat (TT), PL-46
 Calci carbonat, 110
 Calci clorid (TT), PL-46

- Calci clorid dihydrat, 112
Calci clorid khan (TT), PL-46
Calci clorid tetrahydrat (TT), PL-46
Calci gluconat, 113
Calci gluconat để pha thuốc tiêm, 114
Calci glycerophosphat, 116
Calci hydroxyd, 117
Calci hydroxyd (TT), PL-46
Calci lactat (TT), PL-46
Calci lactat pentahydrat, 118
Calci lactat pentahydrat (TT), PL-46
Calci lactat trihydrat, 119
Calci pantothenat, 120
Calci phosphat, 121
Calciferol, 249
Calci sulfat (TT), PL-46
Calci sulfat khô, 104
Calcon (TT), PL-80
Cam cúc, 731
Cam thảo (Rễ), 705
Cam thảo đất, 706
Cam thảo nam, 706
Camphor, 122
Can khương, 771
Cần khô của các chất chiết được trong dược liệu, PL-240
Cân và xác định khối lượng, PL-106
Cánh kiến trắng, 708
Cao bổ phổi, 941
Cao đặc actisô, 682
Cao hy thiêm, 944
Cao ích mẫu, 944
Cao lỏng hoặc hương chính khí, 943
Cao lỏng tứ nghịch, 945
Cao tang cúc âm, 947
Cao thuốc, PL- 9
Captopril, 124
Carbamazepin, 125
Carbomer (TT), PL-46
Carbon disulfid (TT), PL-46
Carbon tetrachlorid (TT), PL-46
Carbophenothion (TT), PL-46
Cát căn, 880
Cát cánh (Rễ), 709
Cát sâm (Rễ), 710
Catechol (TT), PL-72
Cây loét mồm, 732
Cau (Hạt), 710
Cau (Vỏ quả), 711
Câu đằng, 712
Câu kỷ tử, 713
Câu tích (Thân rễ), 714
Cefaclor, 127
Cefadroxil monohydrat, 130
Cefazolin natri, 133
Cefixim, 136
Cefotaxim natri, 139
Cefradin, 141
Ceftriaxon natri, 144
Cefuroxim axetil, 147
Cefuroxim natri, 149
Celulose dùng cho sắc ký (TT), PL-46
Cephalexin, 151
Ceri amoni sulfat (TT), PL-46
Ceri nitrat (TT), PL-47
Ceri sulfat (TT), PL-47
Cetirizin hydroclorid, 154
Cetostearyl alcol, 156
Cetyl alcol, 157
Chè dây (Lá), 714
Chè đồng, 920
Chè thuốc, PL-34
Chè vàng (Lá), 716
Chi tử, 733
Chì acetat (TT), PL-47
Chì nitrat (TT), PL-47
Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn, PL-356
Chỉ thực, 716
Chỉ xác, 718
Chiêu liệu, 799
Chiêu liệu (Vỏ thân), 719
Chiêu liệu nghệ, 719
2-Chloro-4-nitroanilin (TT), PL-48
Chó đẻ răng cưa, 741
Chó đẻ răng cưa thân xanh, 742
Chromotrop 2B (TT), PL-47
Chromotrop II B (TT), PL-47
Chymotrypsin, 157
Cimetidin, 160
Cinarizin, 162
Cineol, 164
Ciprofloxacin hydroclorid, 165
Clarithromycin, 168
Clavulanat kali, 172
Clindamycin hydroclorid, 174
Clofazimin, 176
Clor (TT), PL-47
Cloral hydrat, 177
Cloral hydrat (TT), PL-47
Cloramin B (TT), PL-47
Cloramin T (TT), PL-47
Cloramphenicol, 178
Cloramphenicol palmitat, 181
Cloramphenicol succinat natri, 182
1-Clorobutan (TT), PL-47
1-Cloro-2,4-dinitrobenzen (TT), PL-47
Cloroform, 185
Cloroform (TT), PL-48
Cloroform dùng cho phổ hồng ngoại (TT), PL-48

Cloroform được ổn định với amylen (TT), PL-48
 Cloroform khan (TT), PL-48
 Cloroform không có ethanol (TT), PL-48
 Cloroquin diphosphat, 186
 Cloroquin phosphat, 186
 Clorpheniramin maleat, 188
 Clorpromazin hydroclorid, 190
 Clotrimazol, 193
 Cloxacilin natri, 195
 Cỏ bắc đèn, 755
 Cỏ dùi trống, 725
 Cỏ dĩ, 794
 Cỏ lá tre, 750
 Cỏ mực, 721
 Cỏ ngọt (Lá), 720
 Cỏ nhọ nồi, 721
 Cỏ the, 724
 Cỏ tranh (Thân rễ), 722
 Cỏ xước (Rễ), 723
 Cỡ bột và rây, PL-110
 Cobalt acetat (TT), PL-48
 Cobalt clorid (TT), PL-48
 Cobalt nitrat (TT), PL-48
 Cóc mần, 724
 Cocain hydroclorid, 197
 Codein, 198
 Codein monohydrat, 198
 Codein phosphat, 199
 Cốc tinh thảo, 725
 Copolymer styren - divinylbenzen (TT), PL-48
 Cortison acetat, 202
 Colecalciferol, 201
 Cối xay, 726
 Cơm cháy (Lá), 728
 Cồn nghệ (TT), PL-68
 Cồn tert-butyl (TT), PL-45
 Cồn thuốc, PL-10
 Cốt khí (Rễ), 726
 Cốt toái bồ (Thân rễ), 727
 Cresol (TT), PL-48
 O-Cresol (TT), PL-48
 m-Cresolsulfonphthalein (TT), PL-82
 o-Cresolsulfonphthalein (TT), PL-81
 Crom (VI) oxyd (TT), PL-48
 Crom trioxyd (TT), PL-48
 Củ cây cơm nếp, 785
 Củ chóc (Thân rễ), 729
 Củ gấu, 792
 Củ gấu biển, 792
 Củ gấu vườn, 792
 Củ mài (Củ), 730
 Củ sừng, 731
 Cúc hoa vàng (Cụm hoa), 731
 Curcumin (TT), PL-48
 Cương tâm, 889

Cyanocobalamin, 203
 Cyanogen bromid (Dung dịch) (TT), PL-48
 Cyclohexa-2,5-dien-1,4-dion (TT), PL-45
 Cyclohexan (TT), PL-48
 Cyclohexan (TT_i), PL-49
 Cyclohexan dùng cho phương pháp quang phổ (TT), PL-49
 Cyproheptadin hydroclorid, 205

D

Da cam methyl (TT), PL-80
 Da cam xlenol (TT), PL-80
 Dã cam thảo, 706
 Dạ cẩm, 732
 Dạ giao đằng, 772
 Dâm dương hoắc, 734
 Dành dành (Quả), 733
 Danh mục các chuyên luận của ĐĐVN III không đưa vào ĐĐVN IV, xxxix
 Danh mục các chuyên luận, xxv
 Dapson, 207
 Dâu (Cành), 735
 Dâu (Lá), 736
 Dâu (Quả), 737
 Dâu (Vỏ rễ), 737
 Dầu béo, PL-236
 Dầu mù u, 738
 Dầu silicon dùng bôi trơn, PL-373
 Dây đau xương (Thân), 738
 Dây ruột gà, 682
 Dexamethason, 208
 Dexamethason acetat, 210
 Dexamethason natri phosphat, 212
 Dexchlorpheniramin maleat, 214
 Dexpanthenol, 217
 Dextromethorphan hydrobromid, 219
 Dextrose, 293
 Dextrose ngâm một phần tử nước, 295
 1,4-Diaminobenzen dihydroclorid (TT), PL-71
 1,2-Diaminoethan (TT), PL-54
 Diamoni hydrogen orthophosphat (TT), PL-42
 Diamoni hydrophosphat (TT), PL-42
 Diazepam, 220
 1,4-Diazobicyclo [2,2,2] octan (TT), PL-78
 Dibenzo[a,d]cyclohepta-1,4-dien-3-on;10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5-on (TT), PL-49
 Dibenzosuberone (TT), PL-49
 3',3'-Dibromo-o-cresolsulfonphthalein (TT), PL-82
 3,3'-Dibromothymolsulfonphthalein (TT), PL-85
 Dibutyl ether (TT), PL-49
 Dibutyl phtalat (TT), PL-49
 Dịch dạ dày già (TT), PL-49
 Dịch truyền Ringer-Lactat, 229

- Diclofenac natri, 222
 1,2-Dicloroethan (TT), PL-53
 Diclorofluorescein (TT), PL-81
 Dicloromethan (TT), PL-49
 2,7-Diclorofluorescein (TT), PL-81
 2,6-Diclorophenol-indophenol natri (TT), PL-49
 2,6-Dicloroquinon clorimid (TT), PL-49
 Dicloxacin natri, 225
 O,O-Diethyl S-[(4-clorophenyl)thio]-methylphosphorodithioat (TT), PL-46
 Diethyl phtalat, 227
 Diethylanilin (TT), PL-49
 2,5-Diethoxytetrahydrofuran (TT), PL-49
 N,N-Diethylanilin (TT), PL-49
 5,5-Diethylbarbituric acid (TT), PL-44
 Diethylether (TT), PL-53
 Di-isopropyl ether (TT), PL-49
 Diêm mai, 830
 Diên hồ sách (Rễ củ), 739
 Diếp cá, 740
 Diếp hạ châu đấng, 742
 Diếp hạ châu, 741
 (1,3-Dihydro-3-oxo-isobenzofuran-1-yliden)bis[(6-hydroxy-5-methyl-3,1-phenylen) bis(methylen eimino)diacetic acid] (TT), PL-82
 1,3-Dihydroxynaphthalen (TT), PL-49
 2,2'-Dihydroxy-2,2'-bi-indan-1,1',3,3'-tetraon dihydrat (TT), PL-56
 Dikali hydrophosphat (TT), PL-50
 Dikali sulfat (TT), PL-60
 Dimercaprol, 228
 3,3'-(3,3'-dimethoxy-4,4'-biphenylylen)bis(2,5-diphenyl-2H-tetrazoli clorid) (TT), PL-75
 4-Dimethylaminobenzaldehyd (TT), PL-50
 p-Dimethylaminobenzaldehyd (TT), PL-50
 4-Dimethylaminocinnamaldehyd (TT), PL-50
 [4-[[4-Dimethylamino]phenyl]phenyl-methylen]cyclohexan-2,5-dien-1-yliden] dimethyl (TT), PL-83
 2,6-Dimethylanilin (TT), PL-50
 N,N-Dimethylanilin (TT), PL-50
 1,3-Dimethyl-imidazolidinon (TT), PL-50
 Dimethyl benzen (TT), PL-80
 Dimethyl carbonat (TT), PL-50
 Dimethyl sulfoxid (TT), PL-51
 Dimethyl sulfoxid dùng cho phương pháp quang phổ (TT), PL-51
 Dimethylacetamid (TT), PL-50
 Dimethylanilin (TT), PL-50
 Dimethyldecylamin (TT), PL-50
 Dimethylformamid (TT), PL-50
 2,3-Dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-on (TT), PL-70
 Dinatri (biphenyl-4,4'-diyl-bis-2,2'-azo)bis(1-aminonaphthalen-4-sulfonat) (TT), PL-81
 Dinatri dihydro ethylen diamin tetracetat (TT), PL-78
 Dinatri hydrophosphat (TT), PL-51
 Dinatri hydrophosphat khan (TT), PL-51
 Dinatri 2,2'-[(1-triazen-1,3-diyl)di-4,1-phenylen] bis-[6-methylbenzothiazol-7-sulfonat] (TT), PL-85
 Dinatri 4,5-dihydroxynaphthalen-2,7-disulfonat dihydrat (TT), PL-63
 Di-n-butyl phtalat (TT), PL-49
 Dinitrobenzoyl clorid (TT), PL-51
 3,5-Dinitrobenzoyl clorid (TT), PL-51
 2,4-Dinitrofluorobenzen (TT), PL-54
 2,4-Dinitrophenylhydrazin (TT), PL-51
 Dioctyl natri sulfosuccinat (TT), PL-51
 Dioxan (TT), PL-51
 1,4-Dioxan (TT), PL-51
 S,S-Dioxyd (TT), PL-84
 Diphenhydramin hydroclorid, 229
 Diphenylamin (TT), PL-51
 Diphenylcarbazon (TT), PL-51
 1,5-Diphenylcarbazon (TT), PL-51
 Diphenylethandion (TT), PL-44
 1,5-Diphenylthiocarbazon (TT), PL-52
 Diphosphor pentoxid (TT), PL-71
 2,6-Di-tert-butyl-p-cresol (TT), PL-46
 Dithizon (TT), PL-52
 Divanadi pentoxyd (TT), PL-52
 Domperidon maleat, 231
 Doxycyclin hyclat, 233
 Doxycyclin hydroclorid, 233
 Dung dịch acetaldehyd mẫu 100 phần triệu C₂H₄O trong isopropanol (TT), PL-100
 Dung dịch acetaldehyd mẫu 100 phần triệu C₂H₄O trong nước (TT), PL-100
 Dung dịch acid acetic 2 M (TT), PL-35
 Dung dịch acid acetic 5 M (TT), PL-35
 Dung dịch acid acetic xM (TT), PL-35
 Dung dịch acid acetic 0,1 N (CĐ), PL-87
 Dung dịch acid acetic 6 % (TT), PL-35
 Dung dịch acid acetic 12 % (TT), PL-35
 Dung dịch acid acetic 30 % (TT), PL-35
 Dung dịch acid 4-aminobenzoic (TT), PL-36
 Dung dịch acid aminonaphthalensulfonic (TT), PL-36
 Dung dịch acid boric (TT), PL-36
 Dung dịch acid boric 3 % (TT), PL-36
 Dung dịch acid boric 5 % (TT), PL-36
 Dung dịch acid citric 18 % (TT), PL-36
 Dung dịch acid cromotropic-acid sulfuric (TT), PL-63
 Dung dịch acid hydrocloric 0,1 N trong methanol (CĐ), PL-87
 Dung dịch acid hydrocloric xM (TT), PL-37
 Dung dịch acid hydrocloric 0,1N (CĐ), PL-87
 Dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ), PL-87
 Dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ), PL-87
 Dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT), PL-37
 Dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT), PL-37

Dung dịch acid hydrocloric 16 % (TT), PL-37
 Dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT), PL-37
 Dung dịch acid hydrocloric loãng (TT), PL-37
 Dung dịch acid hydrocloric thiếc hóa (TT), PL-37
 Dung dịch acid hydrocloric trong ethanol (TT), PL-37
 Dung dịch acid hydrocloric trong methanol (TT), PL-37
 Dung dịch acid nitric xM (TT), PL-38
 Dung dịch acid nitric 2 M, PL-38
 Dung dịch acid nitric 10 % (TT), PL-38
 Dung dịch acid nitric 12,5 % (TT), PL-38
 Dung dịch acid nitric 16 % (TT), PL-38
 Dung dịch acid nitric 25 % (TT), PL-38
 Dung dịch acid nitric 32 % (TT), PL-38
 Dung dịch acid nitric 50 % (TT), PL-38
 Dung dịch acid oxalic 4 % (TT), PL-38
 Dung dịch acid oxalic 5 % (TT), PL-38
 Dung dịch acid oxalic 6,3 % (TT), PL-38
 Dung dịch acid oxalic 10 % (TT), PL-38
 Dung dịch acid oxalic trong acid sulfuric (TT), PL-38
 Dung dịch acid percloric (TT), PL-38
 Dung dịch acid percloric xM (TT), PL-38
 Dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ), PL-87
 Dung dịch acid peroxyacetic (TT), PL-35
 Dung dịch acid phenoldisulphonic (TT), PL-70
 Dung dịch acid phosphomolybdic 5 % trong ethanol (TT), PL-39
 Dung dịch acid phosphomolybdic 10 % trong ethanol (TT), PL-38
 Dung dịch acid phosphoric 3 % (TT), PL-39
 Dung dịch acid phosphoric 10 % (TT), PL-39
 Dung dịch acid phosphoric 25 % (TT), PL-39
 Dung dịch acid picric (TT), PL-39
 Dung dịch acid picric 1 % (TT), PL-39
 Dung dịch acid salicylic 0,01 % (TT), PL-39
 Dung dịch acid salicylic 0,024 % (TT), PL-39
 Dung dịch acid silicowolframic 0,2 % (TT), PL-39
 Dung dịch acid silicowolframic 5 % (TT), PL-39
 Dung dịch acid silicowolframic 10 % (TT), PL-39
 Dung dịch acid sulfanilic 2,5 % (TT), PL-39
 Dung dịch acid sulfanilic diazo hóa (TT), PL-39
 Dung dịch acid sulfanilic diazo hóa (TT₁), PL-40
 Dung dịch acid sulfosalicylic (TT), PL-40
 Dung dịch acid sulfuric xM (TT), PL-40
 Dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ), PL-88
 Dung dịch acid sulfuric 0,5 N (CĐ), PL-88
 Dung dịch acid sulfuric 1 N (CĐ), PL-87
 Dung dịch acid sulfuric 1 % (TT), PL-40
 Dung dịch acid sulfuric 2 % (TT), PL-40
 Dung dịch acid sulfuric 5 % (TT), PL-40
 Dung dịch acid sulfuric 10 % (TT), PL-40
 Dung dịch acid sulfuric 20 % (TT), PL-40
 Dung dịch acid sulfuric 38 % (TT), PL-40
 Dung dịch acid sulfuric 50 % (TT), PL-40
 Dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT), PL-40

Dung dịch acid sulfuric trong methanol (TT), PL-40
 Dung dịch acid tarttric 20 % (TT), PL-40
 Dung dịch acid trichloroacetic (TT), PL-40
 Dung dịch acid trichloroacetic 10 % trong methanol (TT), PL-41
 Dung dịch alizarin S (TT), PL-41
 Dung dịch amaranth S 0,2 % (TT), PL-41
 Dung dịch aminophenazon (TT), PL-41
 Dung dịch aminopyrazolon (TT), PL-41
 Dung dịch amoni acetat (TT), PL-41
 Dung dịch amoni acetat 2 M (TT), PL-41
 Dung dịch amoni acetat 15,4 % (TT), PL-41
 Dung dịch amoni carbonat 20 % (TT), PL-41
 Dung dịch amoni carbonat loãng (TT), PL-41
 Dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ), PL-88
 Dung dịch amoni và ceri sulfat 0,1 M (CĐ), PL-88
 Dung dịch amoni clorid 10 % (TT), PL-41
 Dung dịch amoni cobalthiocyanat (TT), PL-43
 Dung dịch amoni mẫu 1 phần triệu NH₄ (TT), PL-100
 Dung dịch amoni mẫu 2,5 phần triệu NH₄ (TT), PL-100
 Dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH₄ (TT), PL-100
 Dung dịch amoni metavanadat (TT), PL-43
 Dung dịch amoni vanadat (TT), PL-43
 Dung dịch amoni molybdat (TT), PL-42
 Dung dịch amoni molybdat - acid sulfuric (TT), PL-42
 Dung dịch amoni molybdat 5 % trong acid sulfuric (TT), PL-42
 Dung dịch amoni oxalat 2,5 % (TT), PL-42
 Dung dịch amoni oxalat 3,5 % (TT), PL-42
 Dung dịch amoni oxalat 4 % (TT), PL-42
 Dung dịch amoni oxalat 5 % (TT), PL-42
 Dung dịch amoni oxalat bão hòa (TT), PL-42
 Dung dịch amoni persulfat 10 % (TT), PL-42
 Dung dịch amoni persulfat 20 % (TT), PL-42
 Dung dịch amoni pyrrolidin dithiocarbamat (TT), PL-42
 Dung dịch amoni sulfocyanid (TT), PL-42
 Dung dịch amoni sulfocyanid 1 M (TT), PL-42
 Dung dịch amoni sulfocyanid 0,1 N (CĐ), PL-88
 Dung dịch amoni thiocyanat 0,1N (CĐ), PL-88
 Dung dịch amoni vanadat 1 % trong acid sulfuric (TT), PL-43
 Dung dịch amoni xM (TT), PL-43
 Dung dịch amoni 5 % (TT), PL-43
 Dung dịch amoni 10 % (TT), PL-43
 Dung dịch amoni loãng (TT), PL-43
 Dung dịch amoni trong methanol (TT), PL-43
 Dung dịch anilin 2,5 % (TT), PL-43
 Dung dịch anilin trong cyclohexan (TT), PL-43
 Dung dịch anisaldehyd (TT), PL-43
 Dung dịch anisaldehyd trong acid sulfuric (TT), PL-43
 Dung dịch anisaldehyd trong ethanol (TT), PL-43
 Dung dịch antimony trichlorid (TT), PL-44
 Dung dịch antimony mẫu 1 phần triệu Sb (TT), PL-100
 Dung dịch antimony mẫu 100 phần triệu Sb (TT), PL-100

- Dung dịch arsen mẫu 0,1 phần triệu As (TT), PL-100
 Dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT), PL-100
 Dung dịch arsen mẫu 10 phần triệu As (TT), PL-100
 Dung dịch arsen mẫu 1000 phần triệu As (TT), PL-100
 Dung dịch bạc mẫu 5 phần triệu Ag (TT), PL-100
 Dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ), PL-88
 Dung dịch bạc nitrat 2 % (TT), PL-44
 Dung dịch bạc nitrat 4 % (TT), PL-44
 Dung dịch bạc nitrat 4,25 % (TT), PL-44
 Dung dịch bạc nitrat 5 % (TT), PL-44
 Dung dịch bão hòa acid picric (TT), PL-39
 Dung dịch bão hòa amoni carbonat (TT), PL-41
 Dung dịch bão hòa brom (TT), PL-45
 Dung dịch bão hòa calci hydroxyd (TT), PL-46
 Dung dịch bão hòa clor (TT), PL-47
 Dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol (TT), PL-59
 Dung dịch bão hòa kali iodid (TT), PL-60
 Dung dịch bão hòa natri hydrocarbonat (TT), PL-65
 Dung dịch bari clorid 0,1 M (CĐ), PL-88
 Dung dịch bari clorid 0,25 M (6,1 %) (TT), PL-44
 Dung dịch bari clorid 0,5 M (TT), PL-44
 Dung dịch bari clorid 5 % (TT), PL-44
 Dung dịch bari hydroxyd (TT), PL-44
 Dung dịch bari mẫu 50 phần triệu Ba (TT), PL-100
 Dung dịch bari mẫu 1000 phần triệu Ba (TT), PL-100
 Dung dịch bismuth mẫu 100 phần triệu Bi (TT), PL-100
 Dung dịch boron trifluorid (TT), PL-45
 Dung dịch boron trifluorid trong methanol (TT), PL-45
 Dung dịch brom (TT), PL-45
 Dung dịch brom 0,1 N (CĐ), PL-88
 Dung dịch brom trong acid acetic (TT), PL-45
 Dung dịch cadmi mẫu 10 phần triệu Cd (TT), PL-100
 Dung dịch cadmi mẫu 1000 phần triệu Cd (TT), PL-100
 Dung dịch calci clorid (TT), PL-46
 Dung dịch calci clorid 10 % (TT), PL-46
 Dung dịch calci mẫu 10 phần triệu Ca (TT), PL-101
 Dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca trong ethanol 96 % (TT), PL-101
 Dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca trong nước (TT), PL-101
 Dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca trong nước số 1 (TT), PL-101
 Dung dịch calci mẫu 400 phần triệu Ca (TT), PL-101
 Dung dịch calci mẫu 1000 phần triệu Ca (TT), PL-100
 Dung dịch calci sulfat (TT), PL-46
 Dung dịch ceri sulfat 0,1 M (CĐ), PL-89
 Dung dịch ceri sulfat 1 % trong acid sulfuric 10 % (TT), PL-47
 Dung dịch chì acetat 9,5 % (TT), PL-47
 Dung dịch chì acetat 20 % (TT), PL-47
 Dung dịch chì mẫu 0,1 phần triệu Pb (TT), PL-101
 Dung dịch chì mẫu 0,5 phần triệu Pb trong acid nitric không có chì (TT), PL-101
 Dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT), PL-101
 Dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT), PL-101
 Dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT), PL-101
 Dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb trong acid nitric không có chì (TT), PL-101
 Dung dịch chì mẫu 20 phần triệu Pb (TT), PL-101
 Dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT), PL-101
 Dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb (TT), PL-101
 Dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb trong acid nitric không có chì (TT), PL-101
 Dung dịch chì nitrat (TT), PL-47
 Dung dịch chì nitrat 0,05 M (CĐ), PL-89
 Dung dịch chì nitrat 0,1 M (CĐ), PL-89
 Dung dịch chì nitrat 0,1 N (CĐ), PL-89
 Dung dịch chromotrop II B (TT), PL-47
 Dung dịch cloral hydrat (TT), PL-47
 Dung dịch cloramin T 0,02 % (TT), PL-47
 Dung dịch cloramin T 2 % (TT), PL-47
 Dung dịch Clorhexidin gluconat, 237
 Dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl (TT), PL-101
 Dung dịch clorid mẫu 8 phần triệu Cl (TT), PL-101
 Dung dịch clorid mẫu 50 phần triệu Cl (TT), PL-101
 Dung dịch clorid mẫu 500 phần triệu Cl (TT), PL-101
 Dung dịch cobalt acetat 0,2 % trong methanol (TT), PL-48
 Dung dịch cobalt clorid 1 % trong methanol (TT), PL-48
 Dung dịch cobalt clorid 2 % (TT), PL-48
 Dung dịch cobalt mẫu 100 phần triệu Co (TT), PL-101
 Dung dịch cobalt nitrat (TT), PL-48
 Dung dịch cobalt nitrat 10 % (TT), PL-48
 Dung dịch crom mẫu 0,1 phần triệu Cr (TT), PL-101
 Dung dịch crom mẫu 100 phần triệu Cr (TT), PL-101
 Dung dịch crom mẫu 1000 phần triệu Cr (TT), PL-101
 Dung dịch da cam methyl (TT), PL-80
 Dung dịch da cam xyleneol (TT), PL-80
 Dung dịch 2,6 diclorophenol-indophenol (TT), PL-49
 Dung dịch 2,6-dicloroquinon clorimid (TT), PL-49
 Dung dịch 4-dimethylaminocinnamaldehyd (TT), PL-50
 Dung dịch 2,4-dinitrophenylhydrazin trong acid hydrocloric (TT), PL-51
 Dung dịch digitoxin mẫu (TT), PL-102
 Dung dịch dinatri hydrophosphat 0,235 M (TT), PL-51
 Dung dịch dinatri hydrophosphat 4 % (TT), PL-51
 Dung dịch dinatri hydrophosphat 12 % (TT), PL-51
 Dung dịch dinitrophenylhydrazin-aceto-hydrocloric (TT), PL-51
 Dung dịch dioxan (TT), PL-51
 Dung dịch dioxan (TT₁), PL-51
 Dung dịch diphenylamin (TT), PL-51
 Dung dịch dithizon 0,025 % trong ethanol (TT), PL-52
 Dung dịch divanadi pentoxyd trong acid sulfuric (TT), PL-52
 Dung dịch đậm đặc ethylen oxyd (TT), PL-54
 Dung dịch đen eriocrom T (TT), PL-81

- Dung dịch đệm acetat - edetat pH 5,5 (TT), PL-92
 Dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT), PL-97
 Dung dịch đệm acetat pH 4,4 (TT), PL-97
 Dung dịch đệm acetat pH 4,5 (TT), PL-92
 Dung dịch đệm acetat pH 4,6 (TT), PL-97
 Dung dịch đệm acetat pH 4,7 (TT), PL-92
 Dung dịch đệm acetat pH 5,0 (TT), PL-92
 Dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT), PL-97
 Dung dịch đệm acetone (TT), PL-92
 Dung dịch đệm acid acetic - amoni acetat (TT), PL-97
 Dung dịch đệm amoni clorid pH 10,0 (TT), PL-97
 Dung dịch đệm amoni carbonat 0,1 M pH 10,3 (TT), PL-92
 Dung dịch đệm amoni clorid pH 9,5 (TT), PL-92
 Dung dịch đệm amoni clorid pH 10,4 (TT), PL-92
 Dung dịch đệm barbitat pH 7,4 (TT), PL-97
 Dung dịch đệm barbitat pH 8,4 (TT), PL-97
 Dung dịch đệm barbitat pH 8,6 (TT), PL-97
 Dung dịch đệm borat 0,0015 M pH 8 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm borat kiềm (TT), PL-92
 Dung dịch đệm borat pH 7,5 (TT), PL-97
 Dung dịch đệm borat pH 10,4 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm citrat pH 5,0 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm diethanolamin pH 10,0 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm đồng sulfat pH 4,0 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm đồng sulfat pH 5,2 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm glycine (TT), PL-93
 Dung dịch đệm HEPES pH 7,5 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm imidazol pH 6,5 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm imidazol pH 7,3 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm kali biphtalat pH 5,6 (TT), PL-98
 Dung dịch đệm maleat pH 7,0 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm natri acetat pH 4,5 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm natri acetat pH 6,0 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm pH 2,0 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm pH 2,0 (TT), PL-98
 Dung dịch đệm pH 2,2 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm pH 2,5 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm pH 2,5 số 1 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm pH 3,0 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm pH 3,6 (TT), PL-99
 Dung dịch đệm pH 3,7 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm pH 5,2 (TT), PL-93
 Dung dịch đệm pH 5,5 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm pH 6,5 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm pH 7,0 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm pH 7,2 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm pH 7,4 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm pH 8,0 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm pH 8,0 (TT₁), PL-94
 Dung dịch đệm pH 9,0 (TT), PL-98
 Dung dịch đệm phosphat octylamin pH 3,0 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat diethylamoni pH 6,0 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat 0,02 M pH 8,0 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat 0,025 M pH 7,0 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat 0,03 M pH 7,0 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 4,5 (TT) PL-94
 Dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 7,0 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat 0,063 M pH 7,0 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat 0,067 M pH 7,0 (TT), PL-99
 Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 3,0 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 6,3 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 6,5 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 7,0 (TT), PL-99
 Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 8,0 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat 0,2 M pH 7,5 (TT), PL-99
 Dung dịch đệm phosphat 0,33 M pH 7,5 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat 1 M pH 8,0 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat pH 2,0 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm phosphat pH 2,8 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm phosphat pH 3,0 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm phosphat pH 3,0 (TT₁), PL-94
 Dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT₁), PL-94
 Dung dịch đệm phosphat pH 3,5, PL-94
 Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 (TT), PL-99
 Dung dịch đệm phosphat pH 5,0, PL-94
 Dung dịch đệm phosphat pH 5,5 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm phosphat pH 5,6 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm phosphat pH 5,8 (TT), PL-94
 Dung dịch đệm phosphat pH 6,8 số 1 (TT), PL-98
 Dung dịch đệm phosphat pH 6,0 (TT), PL-98
 Dung dịch đệm phosphat pH 6,0 (TT₁), PL-94
 Dung dịch đệm phosphat pH 6,0 (TT₂), PL-94
 Dung dịch đệm phosphat pH 6,4 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat pH 6,8 (TT), PL-95 -
 Dung dịch đệm phosphat pH 6,8 (TT), PL-98 -
 Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT₁), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT₂), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT₃), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT₄), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT₅), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT), PL-98
 Dung dịch đệm phosphat pH 7,2 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat pH 7,2 (TT), PL-98
 Dung dịch đệm phosphat pH 7,4 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat pH 9,0 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phosphat-citrat pH 5,5 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phtalat 0,5 M pH 6,4 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm phtalat pH 4,4 (TT), PL-95
 Dung dịch đệm succinat pH 4,6 (TT), PL-96
 Dung dịch đệm sulfat pH 2,0 (TT), PL-96
 Dung dịch đệm tetrabutylamoni pH 7,0 (TT), PL-96
 Dung dịch đệm tris-acetat pH 8,5 (TT), PL-96
 Dung dịch đệm tris-EDTA BSA pH 8,4 (TT), PL-96
 Dung dịch đệm tris-glycine pH 8,3 (TT), PL-96

- Dung dịch đệm tris-hydroclorid 0,05 M pH 7,5 (TT), PL-99
- Dung dịch đệm tris-hydroclorid 1 M pH 6,8 (TT), PL-96
- Dung dịch đệm tris-hydroclorid 1,5 M pH 8,8 (TT), PL-96
- Dung dịch đệm tris-hydroclorid pH 8,0 (TT), PL-96
- Dung dịch đệm tris-hydroclorid pH 8,3 (TT), PL-96
- Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan - natri clorid pH 7,4 (TT), PL-99
- Dung dịch đệm tris (hydroxymethyl) aminomethan-natri clorid pH 7,4 (TT), PL-96
- Dung dịch đệm tris (hydroxymethyl) aminomethan pH 7,4 (TT), PL-96
- Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan pH 7,5 (TT), PL-99
- Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan pH 8,1 (TT), PL-100
- Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan EDTA pH 8,4 (TT), PL-100
- Dung dịch đệm tris (hydroxymethyl) aminomethan 1 M pH 8,5 (TT), PL-96
- Dung dịch đỏ cresol (TT), PL-81
- Dung dịch đỏ methyl (TT), PL-81
- Dung dịch đỏ phenol (TT₁), PL-81
- Dung dịch đỏ phenol (TT₂), PL-81
- Dung dịch đỏ rutheni (TT), PL-52
- Dung dịch đỏ tía bromocresol (TT), PL-82
- Dung dịch đỏ tía cresol (TT), PL-82
- Dung dịch đỏ trung tính (TT), PL-82
- Dung dịch đồng acetat 5 % (TT), PL-52
- Dung dịch đồng - citrat (TT), PL-52
- Dung dịch đồng edetat (TT), PL-52
- Dung dịch đồng mẫu 0,1 phần triệu Cu (TT), PL-102
- Dung dịch đồng mẫu 10 phần triệu Cu (TT), PL-102
- Dung dịch đồng mẫu 1000 phần triệu Cu (TT), PL-102
- Dung dịch đồng sulfat 0,01 M (TT), PL-52
- Dung dịch đồng sulfat 0,5 M (12,5 %) (TT), PL-52
- Dung dịch đồng sulfat 4 % (TT), PL-52
- Dung dịch đồng sulfat 5 % (TT), PL-52
- Dung dịch đồng sulfat 10 % (TT), PL-52
- Dung dịch eosin (TT), PL-82
- Dung dịch ethan - 1,2 - diol 50 % (TT), PL-52
- Dung dịch ethoxycrysoidin (TT), PL-82
- Dung dịch ethylen oxyd (TT₁), PL-54
- Dung dịch ethylen oxyd (TT₂), PL-54
- Dung dịch ethylen oxyd (TT₃), PL-54
- Dung dịch feroin sulfat (TT), PL-83
- Dung dịch fluorid mẫu 1 phần triệu F (TT), PL-102
- Dung dịch fluorid mẫu 10 phần triệu F (TT), PL-102
- Dung dịch formaldehyd, 238
- Dung dịch formaldehyd mẫu 5 phần triệu CH₂O (TT), PL-102
- Dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT), PL-54
- Dung dịch formol (TT), PL-54
- Dung dịch fuchsin đã khử màu (TT), PL-55
- Dung dịch germani mẫu 100 phần triệu Ge (TT), PL-102
- Dung dịch glucose mẫu (TT), PL-102
- Dung dịch glyceryl trinitrat, 239
- Dung dịch glyoxal (TT), PL-55
- Dung dịch glyoxal mẫu 2 phần triệu C₂H₂O₂ (TT), PL-102
- Dung dịch glyoxal mẫu 20 phần triệu C₂H₂O₂ (TT), PL-102
- Dung dịch gốc dioxan (TT), PL-51
- Dung dịch gốc ethylen oxyd (TT), PL-54
- Dung dịch haemoglobin (TT), PL-55
- Dung dịch hồ tinh bột (TT), PL-84
- Dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT), PL-84
- Dung dịch hỗn hợp đỏ methyl (TT), PL-81
- Dung dịch hydrogen peroxyd 10 tt (TT), PL-56
- Dung dịch hydrogen peroxyd 20 tt (TT), PL-56
- Dung dịch hydrogen peroxyd 100 tt (TT), PL-56
- Dung dịch hydrogen peroxyd 200 tt (TT), PL-56
- Dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc (TT), PL-56
- Dung dịch hydrogen peroxyd loãng (TT), PL-56
- Dung dịch hydrogen peroxyd mẫu 10 phần triệu H₂O₂ (TT), PL-102
- Dung dịch hydrogen sulfid (TT), PL-56
- Dung dịch hydroquinon 1 % trong ethanol (TT), PL-56
- Dung dịch hydroxylamin hydroclorid (TT), PL-57
- Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 0,5 N (TT), PL-56
- Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 0,5 % (TT), PL-57
- Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 7 % (TT), PL-56
- Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 20 % (TT), PL-56
- Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 25 % (TT), PL-56
- Dung dịch hydroxylamin hydroclorid trong ethanol (TT), PL-57
- Dung dịch hydroxylamin trong kiềm (TT), PL-57
- Dung dịch hydroxyquinolin 0,5 % trong cloroform (TT), PL-57
- Dung dịch hypophosphit (TT), PL-66
- Dung dịch iod 0,1 N (CĐ), PL-89
- Dung dịch iod bromid (TT), PL-57
- Dung dịch iod mẫu 10 phần triệu I (TT), PL-102
- Dung dịch iod mẫu 20 phần triệu I (TT), PL-102
- Dung dịch iod monoclorid (TT), PL-57
- Dung dịch iod-iodid (TT), PL-57
- Dung dịch iod 5 % trong ethanol (TT), PL-57
- Dung dịch kali antimonat (V) (TT), PL-58
- Dung dịch kali bromat 0,0167 M (CĐ), PL-89
- Dung dịch kali bromat 0,1 N (CĐ), PL-89
- Dung dịch kali bromid 0,0015 % (TT), PL-58
- Dung dịch kali bromid 10 % (TT), PL-58
- Dung dịch kali clorid 10 % (TT), PL-58
- Dung dịch kali cromat 5 % (TT), PL-58
- Dung dịch kali cyanid 10 % (TT), PL-59
- Dung dịch kali dicromat 0,0167 M (CĐ), PL-89
- Dung dịch kali dicromat 0,1 N (CĐ), PL-89
- Dung dịch kali dicromat 5 % (TT), PL-59
- Dung dịch kali dicromat 10,6 % (TT), PL-59

- Dung dịch kali fericyanid 1 % (TT), PL-59
 Dung dịch kali fericyanid 5 % (TT), PL-59
 Dung dịch kali fericyanid 10 % (TT), PL-59
 Dung dịch kali fericyanid loãng (TT), PL-59
 Dung dịch kali ferocyanid (TT), PL-59
 Dung dịch kali ferocyanid 10 % (TT), PL-59
 Dung dịch kali hydrophthalat 0,1 M (CĐ), PL-89
 Dung dịch kali hydroxyd 0,1 M trong ethanol (TT), PL-60
 Dung dịch kali hydroxyd 0,1 M trong methanol (TT), PL-60
 Dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol (TT), PL-60
 Dung dịch kali hydroxyd 0,1 N (CĐ), PL-89
 Dung dịch kali hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ), PL-89
 Dung dịch kali hydroxyd 1,5 M trong ethanol (TT), PL-60
 Dung dịch kali hydroxyd 2 M trong ethanol (TT), PL-59
 Dung dịch kali hydroxyd 0,5 N (TT), PL-59
 Dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ), PL-89
 Dung dịch kali hydroxyd 1 N (CĐ), PL-89
 Dung dịch kali hydroxyd 1 % trong ethanol (TT), PL-59
 Dung dịch kali hydroxyd 3 % (TT), PL-59
 Dung dịch kali hydroxyd 3 % trong methanol (TT), PL-60
 Dung dịch kali hydroxyd 5 % (TT), PL-59
 Dung dịch kali hydroxyd 10 % trong methanol (TT), PL-60
 Dung dịch kali hydroxyd 30 % (TT), PL-59
 Dung dịch kali hydroxyd trong ethanol (TT), PL-60
 Dung dịch kali iodat 0,05 M (CĐ), PL-89
 Dung dịch kali iodat 1/60 M (CĐ), PL-90
 Dung dịch kali iodat 0,1 N (CĐ), PL-89
 Dung dịch kali iodat 5 % (TT), PL-60
 Dung dịch kali iodid (TT), PL-60
 Dung dịch kali iodid - hồ tinh bột (TT), PL-60
 Dung dịch kali iodid loãng (TT), PL-60
 Dung dịch kali iodid 2 % (TT), PL-60
 Dung dịch kali iodid 10 % (TT), PL-60
 Dung dịch kali iodid 50 % (TT), PL-60
 Dung dịch kali iodobismuthat (TT), PL-76
 Dung dịch kali mẫu 20 phần triệu K (TT), PL-102
 Dung dịch kali mẫu 100 phần triệu K (TT), PL-102
 Dung dịch kali mẫu 600 phần triệu K (TT), PL-102
 Dung dịch kali mẫu 2000 phần triệu K (TT), PL-102
 Dung dịch kali periodat 0,1 % (TT), PL-60
 Dung dịch kali permanganat 0,02 M (CĐ), PL-90
 Dung dịch kali permanganat 0,1 N (CĐ), PL-90
 Dung dịch kali permanganat 5 % (TT), PL-60
 Dung dịch kali permanganat trong acid phosphoric (TT), PL-60
 Dung dịch kali sulfat 0,001 M (TT), PL-61
 Dung dịch kali sulfocyanid 10 % (TT), PL-61
 Dung dịch kali tetraiodomercurat (TT), PL-76
 Dung dịch kali tetraiodomercurat kiềm (TT), PL-60
 Dung dịch kẽm clorid 0,05 M (CĐ), PL-90
 Dung dịch kẽm clorid-iod (TT), PL-61
 Dung dịch kẽm mẫu 5 phần triệu Zn (TT), PL-102
 Dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu Zn (TT), PL-102
 Dung dịch kẽm mẫu 25 phần triệu Zn (TT), PL-102
 Dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu Zn (TT), PL-102
 Dung dịch kẽm mẫu 5 mg/ml Zn (TT), PL-102
 Dung dịch kẽm sulfat 0,1 M (CĐ), PL-90
 Dung dịch kiềm - amoniac (TT), PL-43
 Dung dịch kiềm pyrogallol (TT), PL-72
 Dung dịch lanthan clorid (TT), PL-61
 Dung dịch lanthan nitrat 5 % (TT), PL-61
 Dung dịch lithi mẫu 100 phần triệu Li (TT), PL-102
 Dung dịch lithi methoxyd 0,1 M (CĐ), PL-90
 Dung dịch lục bromocresol - đỏ methyl (TT), PL-82
 Dung dịch lục bromocresol (TT₁), PL-82
 Dung dịch lục bromocresol (TT₂), PL-82
 Dung dịch lục malachit 0,5 % (TT), PL-83
 Dung dịch lưu huỳnh kết tủa 1 % trong carbon disulfid (TT), PL-62
 Dung dịch magnesi clorid 0,1 M (CĐ), PL-90
 Dung dịch magnesi mẫu 10 phần triệu Mg (TT), PL-103
 Dung dịch magnesi mẫu 100 phần triệu Mg (TT), PL-103
 Dung dịch magnesi mẫu 1000 phần triệu Mg (TT), PL-103
 Dung dịch magnesi sulfat 0,05 M (CĐ), PL-90
 Dung dịch magnesi sulfat 5 % (TT), PL-62
 Dung dịch magnesi sulfat 12 % (TT), PL-62
 Dung dịch magnesi sulfat 25 % (TT), PL-62
 Dung dịch magnesi uranyl acetat (TT), PL-62
 Dung dịch mangan mẫu 100 phần triệu Mn (TT), PL-103
 Dung dịch muối đệm pH 7,2 (TT), PL-96
 Dung dịch murexid (TT), PL-83
 Dung dịch N-(1-naphthyl)-ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT), PL-64
 Dung dịch 1-naphtol (TT), PL-64
 Dung dịch 2-naphtol (TT), PL-64
 Dung dịch 1-naphtholbenzein (TT), PL-83
 Dung dịch 2-naphtol trong kiềm (TT), PL-64
 Dung dịch naphthylamin 0,001 % (TT), PL-63
 Dung dịch natri acetat 20 % (TT), PL-64
 Dung dịch natri acetat 40 % (TT), PL-64
 Dung dịch natri arsenit 0,1 M (CĐ), PL-90
 Dung dịch natri arsenit 0,1 M (TT), PL-44
 Dung dịch natri bicarbonat 5 % (TT), PL-65
 Dung dịch natri carbonat 5 % (TT), PL-64
 Dung dịch natri carbonat 10 % (TT), PL-64
 Dung dịch natri carbonat 20 % (TT), PL-64
 Dung dịch natri carbonat 30 % (TT), PL-64
 Dung dịch natri carbonat bão hòa (TT), PL-64
 Dung dịch natri clorid 1 % (TT), PL-65
 Dung dịch natri clorid 10 % (TT), PL-65
 Dung dịch natri clorid 2 M (TT), PL-65
 Dung dịch natri clorid bão hòa (TT), PL-65
 Dung dịch natri clorid đẳng trương (TT), PL-65
 Dung dịch natri clorid - gelatin (TT), PL-65
 Dung dịch natri cobaltinitrit 10 % (TT), PL-65
 Dung dịch natri edetat 0,05 M (CĐ), PL-92

- Dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ), PL-92
 Dung dịch natri fluorid 2,5 % (TT), PL-65
 Dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT), PL-65
 Dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), PL-66
 Dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), PL-66
 Dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT), PL-65
 Dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT), PL-65
 Dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ), PL-91
 Dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ), PL-91
 Dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ), PL-90
 Dung dịch natri hydroxyd 1 N, PL-90
 Dung dịch natri hydroxyd 2 % (TT), PL-66
 Dung dịch natri hydroxyd 5 % (TT), PL-66
 Dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT), PL-66
 Dung dịch natri hydroxyd 15 % (TT), PL-66
 Dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT), PL-65
 Dung dịch natri hydroxyd 30 % (TT), PL-65
 Dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT), PL-65
 Dung dịch natri hydroxyd loãng (TT), PL-66
 Dung dịch natri hydroxyd trong methanol (TT₁), PL-66
 Dung dịch natri hypoclorit (3 % Cl) (TT), PL-66
 Dung dịch natri hypoclorit mạnh (TT), PL-66
 Dung dịch natri kali tartrat 5 % (TT), PL-66
 Dung dịch natri mẫu 50 phần triệu Na (TT), PL-103
 Dung dịch natri mẫu 200 phần triệu Na (TT), PL-103
 Dung dịch natri methoxyd 0,1 M (CĐ), PL-91
 Dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ), PL-91
 Dung dịch natri nitrit 1 % (TT), PL-66
 Dung dịch natri nitrit 5 % (TT), PL-66
 Dung dịch natri nitrit 10 % (TT), PL-66
 Dung dịch natri nitroprusiat 0,5 % (TT), PL-67
 Dung dịch natri nitroprusiat 1 % (TT), PL-67
 Dung dịch natri nitroprusiat 2 % (TT), PL-67
 Dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT), PL-67
 Dung dịch natri nitroprusiat 10 % (TT), PL-67
 Dung dịch natri periodat 0,1 M (CĐ), PL-91
 Dung dịch natri periodat 2,14 % (TT), PL-67
 Dung dịch natri picrat kiềm (TT), PL-39
 Dung dịch natri sulfat 10 % (TT), PL-67
 Dung dịch natri sulfid (TT), PL-67
 Dung dịch natri sulfid (TT₁), PL-67
 Dung dịch natri sulfid 2 % (TT), PL-67
 Dung dịch natri sulfit 20 % (TT), PL-67
 Dung dịch natri sulfit 40 % (TT), PL-67
 Dung dịch natri tetraphenylborat 1 % (TT), PL-68
 Dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ), PL-91
 Dung dịch nhôm clorid (TT), PL-68
 Dung dịch nhôm clorid 3 % (TT), PL-68
 Dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu Al (TT), PL-103
 Dung dịch nhôm mẫu 10 phần triệu Al (TT), PL-103
 Dung dịch nhôm mẫu 100 phần triệu Al (TT), PL-103
 Dung dịch nhôm mẫu 200 phần triệu Al (TT), PL-103
 Dung dịch nhôm nitrat 10 % (TT), PL-68
 Dung dịch nickel mẫu 0,1 phần triệu Ni (TT), PL-103
 Dung dịch nickel mẫu 0,2 phần triệu Ni (TT), PL-103
 Dung dịch nickel mẫu 10 phần triệu Ni (TT), PL-103
 Dung dịch nickel mẫu 1000 phần triệu Ni (TT), PL-103
 Dung dịch nicotinamid-adenin dinucleotid (TT), PL-68
 Dung dịch ninhydrin (TT), PL-69
 Dung dịch ninhydrin (TT₁), PL-69
 Dung dịch ninhydrin (TT₂), PL-69
 Dung dịch ninhydrin 0,1 % (TT), PL-69
 Dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT), PL-69
 Dung dịch ninhydrin 0,25 % (TT), PL-69
 Dung dịch ninhydrin 0,3 % trong ethanol (TT), PL-69
 Dung dịch ninhydrin 2 % (TT), PL-69
 Dung dịch nitrat mẫu 2 phần triệu NO₃ (TT), PL-103
 Dung dịch nitrat mẫu 10 phần triệu NO₃ (TT), PL-103
 Dung dịch nitrit mẫu 20 phần triệu NO₂ (TT), PL-103
 Dung dịch nitrat mẫu 100 phần triệu NO₃ (TT), PL-103
 Dung dịch nitrat mẫu 1000 phần triệu NO₃ (TT), PL-103
 Dung dịch nitrobenzaldehyd (TT), PL-69
 Dung dịch paladi mẫu 0,5 phần triệu Pd (TT), PL-103
 Dung dịch paladi mẫu 20 phần triệu Pd (TT), PL-103
 Dung dịch paladi mẫu 500 phần triệu Pd (TT), PL-103
 Dung dịch pararosanilin đã khử màu (TT), PL-70
 Dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd (TT₁), PL-50
 Dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd (TT₂), PL-50
 Dung dịch p-ethoxycrysoidin hydroclorid 0,1 % trong ethanol (TT), PL-53
 Dung dịch phèn chua 2 % (TT), PL-70
 Dung dịch phenolphthalein (TT), PL-83
 Dung dịch phenolphthalein (TT₁), PL-83
 Dung dịch phenylhydrazin - acid sulfuric (TT), PL-71
 Dung dịch phenylhydrazin hydroclorid (TT), PL-71
 Dung dịch phloroglucinol (TT), PL-71
 Dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu PO₄ (TT), PL-104
 Dung dịch phosphat mẫu 100 phần triệu PO₄ (TT), PL-103
 Dung dịch phosphat mẫu 200 phần triệu PO₄ (TT), PL-103
 Dung dịch phosphat mẫu 500 phần triệu PO₄ (TT), PL-103
 Dung dịch p-nitroanilin diazo hóa (TT), PL-69
 Dung dịch Povidon iod, 505
 Dung dịch quỳ (TT), PL-83
 Dung dịch resorcin (TT), PL-72
 Dung dịch resorcin 2 % (TT), PL-72
 Dung dịch resorcin 5 % trong ethanol (TT), PL-72
 Dung dịch salin đệm phosphat - albumin pH 7,2 (TT), PL-96
 Dung dịch salin đệm phosphat - albumin pH 7,2 (TT₁), PL-96
 Dung dịch salin đệm phosphat pH 6,4 (TT), PL-96
 Dung dịch salin đệm phosphat pH 6,8 (TT), PL-96
 Dung dịch salin đệm phosphat pH 7,4 (TT), PL-96
 Dung dịch sắt (III) nitrat 0,1 % trong acid nitric 0,1 % (TT), PL-73

- Dung dịch sắt (III) amoni sulfat (TT), PL-84
 Dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT), PL-84
 Dung dịch sắt (III) amoni sulfat 20 % (TT), PL-84
 Dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT), PL-72
 Dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT), PL-72
 Dung dịch sắt (III) clorid 20 % (TT), PL-72
 Dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT), PL-72
 Dung dịch sắt (III) clorid 5 % trong acid nitric 50 % (TT), PL-73
 Dung dịch sắt (III) clorid trong ethanol (TT), PL-72
 Dung dịch sắt (III) clorid - fericyanid - arsenit (TT), PL-73
 Dung dịch sắt (II) sulfat (TT₁), PL-73
 Dung dịch sắt (II) sulfat (TT₂), PL-73
 Dung dịch sắt (II) sulfat 1,5 % (TT), PL-73
 Dung dịch sắt (II) sulfat 8 % (TT), PL-73
 Dung dịch sắt mẫu 1 phần triệu Fe (TT), PL-104
 Dung dịch sắt mẫu 2 phần triệu Fe (TT), PL-104
 Dung dịch sắt mẫu 8 phần triệu Fe (TT), PL-104
 Dung dịch sắt mẫu 10 phần triệu Fe (TT), PL-104
 Dung dịch sắt mẫu 20 phần triệu Fe (TT), PL-104
 Dung dịch sắt mẫu 200 phần triệu Fe (TT), PL-104
 Dung dịch sắt mẫu 250 phần triệu Fe (TT), PL-104
 Dung dịch sắt mẫu 1000 phần triệu Fe (TT), PL-104
 Dung dịch selen mẫu 1 phần triệu Se (TT), PL-104
 Dung dịch selen mẫu 100 phần triệu Se (TT), PL-104
 Dung dịch stronti mẫu 1 phần trăm Sr (TT), PL-104
 Dung dịch sudan III (TT), PL-74
 Dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO₄ (TT), PL-104
 Dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO₄ trong ethanol (TT), PL-104
 Dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO₄ (TT), PL-104
 Dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO₄ trong ethanol (TT), PL-104
 Dung dịch sulfit mẫu 1,5 phần triệu SO₂ (TT), PL-104
 Dung dịch sulfit mẫu 80 phần triệu SO₂ (TT), PL-104
 Dung dịch sulphomolybdic (TT), PL-42
 Dung dịch tanin 5 % (TT), PL-74
 Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CĐ), PL-91
 Dung dịch tetramethylamoni hydroxyd (TT), PL-75
 Dung dịch tetramethylamoni hydroxyd loãng (TT), PL-75
 Dung dịch thali mẫu 10 phần triệu TI (TT), PL-104
 Dung dịch thiếc (II) clorid (TT), PL-75
 Dung dịch thiếc (II) clorid (TT₁), PL-75
 Dung dịch thiếc (II) clorid (TT₂), PL-75
 Dung dịch thiếc (II) clorid 4 % (TT), PL-75
 Dung dịch thiếc (II) clorid 40 % trong acid hydrocloric (TT), PL-75
 Dung dịch thiếc (II) clorid AsT (TT), PL-75
 Dung dịch thiếc mẫu 0,1 phần triệu Sn (TT), PL-104
 Dung dịch thiếc mẫu 5 phần triệu Sn (TT), PL-104
 Dung dịch thioacetamid (TT), PL-75
 Dung dịch thioacetamid 4 % (TT), PL-75
 Dung dịch thioure 10 % (TT), PL-76
 Dung dịch thuốc, PL-11
 Dung dịch thủy ngân (II) acetat (TT), PL-77
 Dung dịch thủy ngân (II) acetat 5 % (TT), PL-77
 Dung dịch thủy ngân diclorid 5 % (TT), PL-77
 Dung dịch thủy ngân (II) nitrat (TT), PL-77
 Dung dịch thủy ngân (II) nitrat 0,02 M (CĐ), PL-91
 Dung dịch thủy ngân (II) sulfat (TT), PL-77
 Dung dịch thủy ngân (II) thiocyanat (TT), PL-77
 Dung dịch thymolphthalein (TT), PL-84
 Dung dịch tím pyrocatechin (TT), PL-84
 Dung dịch tím tinh thể (TT), PL-84
 Dung dịch titan (III) clorid (TT), PL-77
 Dung dịch titan mẫu 100 phần triệu Ti (TT), PL-104
 Dung dịch titan trichlorid (TT), PL-77
 Dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ), PL-91
 Dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ), PL-92
 Dung dịch triphenyl tetrazoli clorid (TT), PL-79
 Dung dịch vanadi mẫu 1 g/l V (TT), PL-104
 Dung dịch vàng alizarin (TT), PL-85
 Dung dịch vàng clorid (TT), PL-79
 Dung dịch vàng metanil (TT), PL-85
 Dung dịch vàng titan (TT), PL-85
 Dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT), PL-79
 Dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric (TT), PL-79
 Dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT), PL-79
 Dung dịch vanilin trong acid hydrocloric (TT), PL-79
 Dung dịch vanilin trong acid phosphoric (TT), PL-79
 Dung dịch vanilin trong acid sulfuric (TT), PL-79
 Dung dịch vanilin trong ethanol 96 % (TT), PL-79
 Dung dịch vanilin-acid sulfuric (TT), PL-79
 Dung dịch xanh bromocresol - đỏ methyl (TT), PL-82
 Dung dịch xanh bromophenol (TT), PL-85
 Dung dịch xanh bromophenol (TT₁), PL-85
 Dung dịch xanh bromophenol trong ethanol (TT), PL-85
 Dung dịch xanh bromothymol (TT), PL-85
 Dung dịch xanh methylen 0,15 % (TT), PL-80
 Dung dịch xanh methylen 0,37 % (TT), PL-80
 Dung dịch xanh tetrazolium (TT), PL-80
 Dung dịch xanh thymol (TT), PL-85
 Dung dịch xanh thymol trong dimethylformamid (TT), PL-86
 Dung dịch xanh thymol trong methanol (TT), PL-86
 Dung dịch zirconi 1 g/l Zr (TT), PL-104
 Dung dịch zirconyl nitrat (TT), PL-80
 Dụng cụ đo thể tích, PL-109
 Dụng cụ tiêm truyền đã tiệt khuẩn, PL-368
 Dự lượng hóa chất bảo vệ thực vật, PL-241
 Dừa cạn (Lá), 743
 Dừa cạn (Rễ), 744

D

- Đại (Hoa), 746
 Đại hoàng (Thân rễ), 747
 Đại hoàng tinh, 785
 Đại hồi (Quả), 748
 Đại phù bình, 749
 Đại phúc bì, 711
 Đại phúc mao, 711
 Đại táo (Quả), 750
 Đại thạch cao, 893
 Đạm trúc điệp, 750
 Đan sâm (Rễ), 751
 Đảng sâm (Rễ), 752
 Đảng sâm bắc, 752
 Đảng sâm Việt Nam (Rễ), 753
 Đảng sâm Việt Nam chế, 754
 Đào (Hạt), 756
 Đẳng tâm thảo, 755
 Đậu đen (Hạt), 756
 Đậu miêu, 700
 Đậu ván trắng (Hạt), 757
 Đậu xanh (Hạt), 758
 Đen eriocrom T (TT), PL-81
 Đệm acetat pH 2,45 (TT), PL-97
 Đệm acetat pH 2,8 (TT), PL-97
 Đệm acetat pH 3,4 (TT), PL-97
 Đệm acetat pH 3,5 (TT), PL-97
 Đệm acetat pH 3,7 (TT), PL-97
 Đệm acetat pH 4,4 (TT), PL-97
 Đệm acetat pH 4,6 (TT), PL-97
 Đệm acetat pH 5,0 (TT), PL-97
 Đệm acetat pH 6,0 (TT), PL-97
 Đệm acetic - amoniác trong ethanol pH 3,7 (TT), PL-93
 Đệm acid acetic - amoni acetat (TT), PL-97
 Đệm acid thiobarbituric-citrat (TT), PL-97
 Đệm amoniác - amoni clorid (TT), PL-97
 Đệm amoniác pH 9,5 (TT), PL-92
 Đệm amoniác pH 10,0 (TT), PL-97
 Đệm amoniác pH 10,9 (TT), PL-97
 Đệm amoniác pH 10,9 pha loãng (TT), PL-97
 Đệm barbiton pH 7,4 (TT), PL-97
 Đệm barbiton pH 8,4 (TT), PL-97
 Đệm barbiton pH 8,6 (TT), PL-97
 Đệm borat pH 7,5 (TT), PL-97
 Đệm borat pH 8,0 (TT), PL-97
 Đệm borat pH 9,0 (TT), PL-97
 Đệm borat pH 9,6 (TT), PL-97
 Đệm boric pH 9,0 (TT), PL-98
 Đệm carbonat pH 9,7 (TT), PL-98
 Đệm citro - phosphat pH 4,5 (TT), PL-98
 Đệm citro - phosphat pH 5,0 (TT), PL-98
 Đệm citro - phosphat pH 6,0 (TT), PL-98
 Đệm citro - phosphat pH 6,5 (TT), PL-98
 Đệm citro - phosphat pH 6,8 (TT), PL-98
 Đệm citro - phosphat pH 7,0 (TT), PL-98
 Đệm citro - phosphat pH 7,2 (TT), PL-98
 Đệm citro - phosphat pH 7,6 (TT), PL-98
 Đệm clorid 0,1 M pH 2,0 (TT), PL-98
 Đệm glycin pH 2,9 (TT), PL-98
 Đệm glycin pH 11,3 (TT), PL-98
 Đệm hiệu chỉnh lực ion toàn phần (TT₁), PL-98
 Đệm hiệu chỉnh lực ion toàn phần (TT), PL-98
 Đệm kali phtalat pH 5,6 (TT), PL-98
 Đệm phosphat 0,2 M pH 7,5 (TT), PL-99
 (Các) Đệm phosphat chuẩn, PL-99
 Đệm phosphat chuẩn 0,025 M (TT), PL-98
 Đệm phosphat hỗn hợp 0,067 M pH 7,0 (TT), PL-99
 Đệm phosphat hỗn hợp 0,1 M pH 7,0 (TT), PL-99
 Đệm phosphat hỗn hợp 0,2 M pH 6,8 (TT), PL-98
 Đệm phosphat hỗn hợp pH 4,0 (TT), PL-98
 Đệm phosphat hỗn hợp pH 5,4 (TT), PL-98
 Đệm phosphat hỗn hợp pH 6,8 (TT), PL-98
 Đệm phosphat hỗn hợp pH 7,0 (TT), PL-99
 Đệm phosphat hỗn hợp pH 10 (TT), PL-99
 Đệm phosphat pH 2,5 (TT), PL-93
 Đệm phosphat pH 2,5 số 1 (TT), PL-93
 Đệm phosphat pH 3,0 (TT), PL-99
 Đệm phosphat pH 3,5 (TT), PL-99
 Đệm phosphat pH 4,0 (TT), PL-99
 Đệm phosphat pH 4,75 (TT), PL-99
 Đệm phosphat pH 4,9 (TT), PL-99
 Đệm phosphat pH 6,0 (TT), PL-99
 Đệm phtalat pH 3,6 (TT), PL-99
 Đệm tris-clorid pH 7,4 (TT), PL-99
 Đệm tris-clorid pH 7,5 (TT), PL-99
 Đệm tris-clorid pH 7,5 số 1 (TT), PL-99
 Đệm tris-clorid pH 8,1 (TT), PL-99
 Đệm tris-clorid pH 8,6 (TT), PL-100
 Đệm tris-EDTA pH 8,4 (TT), PL-100
 Địa cốt bì, 759
 Địa du (Rễ), 759
 Địa hoàng (Rễ), 760
 Địa liên (Thân rễ), 761
 Địa long, 762
 Đinh hương (Nụ hoa), 763
 Đinh lăng (Rễ), 764
 Định lượng N,N-dimethylanilin, PL-217
 Định lượng acid 2-ethylhexanoic, PL-218
 Định lượng aldehyd trong tinh dầu, PL-233
 Định lượng các kháng sinh họ penicilin bằng phương pháp đo iod, PL-188
 Định lượng các steroid bằng tetrazolium, PL-189
 Định lượng cineol trong tinh dầu, PL-233
 Định lượng nitrogen trong hợp chất hữu cơ, PL-189
 Định lượng nước bằng thuốc thử Karl Fischer, PL-185
 Định lượng taninoid trong dược liệu, PL-234
 Định lượng tinh dầu trong dược liệu, PL-235
 Định lượng vitamin A, PL-190

Định tính các penicilin, PL-169
 Định tính dược liệu và các chế phẩm bằng kính hiển vi, PL-244
 Đồ congo (TT), PL-81
 Đồ cresol (TT), PL-81
 Đồ methyl (TT), PL-81
 Đồ phenol (TT), PL-81
 Đồ rutheni (TT), PL-52
 Đồ tía bromocresol (TT), PL-82
 Đồ tía cresol (TT), PL-82
 Đồ tía phthalein (TT), PL-82
 Đồ trung tính (TT), PL-82
 Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm nhỏ mắt, PL-367
 Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm thuốc tiêm, PL-362
 Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho những chế phẩm không phải thuốc tiêm, PL-362
 Đồ đựng bằng kim loại cho thuốc mỡ tra mắt, PL-360
 Đồ đựng bằng thủy tinh dùng cho chế phẩm dược, PL-358
 Đồ đựng dùng cho chế phẩm dược, PL-358
 Đồ đựng và nút bằng chất dẻo, PL-361
 Đỗ trọng (Vỏ thân), 765
 Độc hoạt (Rễ), 766
 Độc hoạt ký sinh thang, 947
 Đồng acetat (TT), PL-52
 Đồng phôi (TT), PL-52
 Đồng sulfat (TT), PL-52
 Đồng sulfat khan (TT), PL-52
 Đồng sulfat khan, 241
 Đồng sulfat, 240
 Đồng tiền lông, 806
 Đốt trong oxygen, PL-219
 Đơn lá đỏ (Lá), 767
 Đơn mặt trời, 767
 Đơn tía, 767
 Dùm dũm, 825
 Dương qui (Rễ), 767
 Dương quy di thực (Rễ), 768
 Đường trắng, 242

E

É tía, 791
 É trắng, 791
 EDTA pH 8,4 (TT), PL-100
 Enalapril maleat, 244
 Eosin (TT), PL-82
 Ephedrin hydroclorid, 247
 Epinephrin, 28
 Ergocalciferol, 249
 Erythromycin, 251
 Erythromycin ethyl succinat, 254
 Erythromycin stearat, 256

Erythrosin, 259
 Ethambutol hydroclorid, 260
 Ethan-1,2-diol (TT), PL-52
 Ethanol, 264
 Ethanol (TT), PL-53
 Ethanol 20 %, 264
 Ethanol 25 %, 264
 Ethanol 45 %, 264
 Ethanol 50 %, 264
 Ethanol 60 %, 264
 Ethanol 70 %, 264
 Ethanol 80 %, 264
 Ethanol 90 %, 264
 Ethanol 96 % (TT), PL-53
 Ethanol 96%, 264
 Ethanol 96% không có aldehyd (TT), PL-53
 (Các) Ethanol loãng, 264
 Ethanol tuyệt đối (TT), PL-53
 Ether (TT), PL-53
 Ether dầu hỏa (TT), PL-53
 Ether ethylic (TT), PL-53
 Ether không có peroxyd (TT), PL-53
 Ether mê, 266
 Ether thường, 266
 Ethinylestradiol, 267
 Ethoxycrysoidin hydroclorid (TT), PL-82
 p-Ethoxycrysoidin hydroclorid (TT), PL-53
 4-p-Ethoxyphenylazo-m-phenylendiamin hydroclorid (TT), PL-53
 4-[(4-Ethoxyphenyl)diazenyl]phenylen-1,3-diamin hydroclorid (TT), PL-82
 Ethyl acetat (TT), PL-53
 Ethyl N-acetyl-L-tyrosinat (TT), PL-35
 Ethyl cyanoacetat (TT), PL-53
 Ethyl methyl keton (TT), PL-45
 Ethylen clorid (TT), PL-53
 Ethylen diamin (TT), PL-54
 Ethylen glycol (TT), PL-52
 Ethylen oxyd (TT), PL-54
 Eucalyptol, 164
 Eugenol, 268

F

Famotidin, 269
 Fenofibrat, 272
 Fibrin đồ congo (TT), PL-54
 Flucloxacilin natri, 273
 Fluconazol, 274
 Fluocinolon acetonid, 276
 Fluocinolon acetonid dihydrat, 279
 1-Fluoro-2,4-dinitrobenzen (TT), PL-54
 Formalin (TT), PL-54
 Formaldehyd (TT), PL-54

Formamid (TT), PL-54
 Fuchsin (TT), PL-55
 Fuchsin base (TT), PL-55
 Furan-2,5-dione (TT), PL-43
 Furosemid, 279

G

Gai (Rễ), 769
 Gai chống, 692
 Gai sấu, 692
 Gấc (Áo hạt), 770
 Gấc (Hạt), 770
 Gelatin, 281
 Gelatin (TT), PL-55
 Gelatin thủy phân (TT), PL-55
 Gentamicin sulfat, 282
 Gentialviolet (TT), PL-84
 Giăng xay, 726
 Giàn sàng, 932
 Giấy hồ tinh bột có iodid (TT), PL-84
 Giấy quỳ đỏ (TT), PL-83
 Giấy quỳ xanh (TT), PL-83
 Giấy tẩm chì acetat (TT), PL-47
 Giấy tẩm mangan bạc (TT), PL-62
 Giấy tẩm thủy ngân (II) bromid (TT), PL-77
 Giấy vàng titan (TT), PL-85
 Giới hạn cho phép về thể tích, nồng độ, hàm lượng thuốc của các dạng bào chế, PL-220
 Giun đất, 762
 Glibenclamid, 286
 Gliclazid, 288
 Globulin miễn dịch người, 645
 Glucosamin hydroclorid, 289
 Glucosamin sulfat kali clorid, 291
 Glucosamin sulfat natri clorid, 292
 Glucose khan, 293
 Glucose ngâm một phần từ nước, 295
 Glycerin, 296
 Glycerin (TT), PL-55
 Glycerin 85 % (TT), PL-55
 Glycerol, 296
 Glycerol monostearate 40 -55, 298
 Glyoxalin (TT), PL-57
 Gỗ vang, 919
 Griseofulvin, 299
 Guaifenesin, 302
 Guanidin hydroclorid (TT), PL-55
 Gừng (Thân rễ), 771

H

Hạ khô thảo (Cụm quả), 774
 Hà thủ ô đỏ (Rễ), 772

Hà thủ ô trắng (Rễ), 773
 Haemoglobin (TT), PL-55
 Hải mã, 704
 Hải sài, 816
 Haloperidol, 303
 Halothan, 306
 Hạnh đẳng, 801
 Hành lào, 879
 Hạnh nhân đắng, 801
 Hắc sừ, 695
 Hậu phác (Vỏ), 775
 Hạt cải trắng, 690
 Heli dùng cho sắc ký khí (TT), PL-55
 Heliathin (TT), PL-80
 Heptan (TT), PL-55
 Hexamethyldisilazan (TT), PL-55
 Hexamethylenetetramin (TT), PL-79
 Hexamethyl-p-rosanilin clorid (TT), PL-8
 2, 6, 10, 15, 19, 23-Hexamethyltetracosan, PL-74
 Hexamin (TT), PL-29
 Hexan (TT), PL-55
 n-Hexan (TT), PL-56
 Hexan dùng cho phương pháp quang phổ (TT), PL-56
 Hexylamin (TT), PL-56
 Hoa sứ trắng, 746
 Hoa tiêu, 936
 Hóa chất và thuốc thử, PL-35
 Hoài sơn, 730
 Hoàn an thai, 948
 Hoàn bát trân, 949
 Hoàn bát vị, 949
 Hoàn bổ trung ích khí, 950
 Hoàn lục vị, 951
 Hoàn minh mục địa hoàng, 952
 Hoàn ngân kiều giải độc, 953
 Hoàn nhị trần, 954
 Hoàn ninh khôn, 956
 Hoàn phỉ nhi, 957
 Hoàn quy tỷ, 957
 Hoàn sâm nhung bổ thận, 958
 Hoàn thập toàn đại bổ, 959
 Hoàn thiên vương bổ tâm, 961
 Hoàn tiêu dao, 962
 Hoàng bá (Vỏ thân), 778
 Hoàng cầm (Rễ), 779
 Hoàng đằng (Thân và rễ), 780
 Hoàng kỳ (Rễ), 782
 Hoàng liên (Thân rễ), 783
 Hoàng nàn (Vỏ thân, vỏ cành), 784
 Hoàng tinh (Thân rễ), 785
 Hoàng tinh dạng gừng, 785
 Hoàng tinh đầu gà, 785
 Hoạt thạch, 786
 Hoắc hương, 777

Hồe (Nụ hoa), 786
 Hồ tiêu (Quả), 776
 Hội đồng Dược điển Việt Nam IV, xix
 Hỗn dịch thuốc, PL-12
 Hỗn hợp calcon (TT), PL-80
 Hỗn hợp chỉ thị màu calcein (TT), PL-46
 Hỗn hợp da cam xylenol (TT), PL-80
 Hỗn hợp đen eriocrom T (TT), PL-81
 Hỗn hợp murexid (TT), PL-83
 Hồng hoa (Hoa), 788
 Hợp kim Raney (TT), PL-68
 Húng chanh (Lá), 788
 Huyền hồ sách, 739
 Huyền sâm (Rễ), 789
 Huyết đẳng, 798
 Huyết giác (Lõi gỗ), 790
 Huyết thanh kháng bạch hầu, 648
 Huyết thanh kháng đại, 648
 Huyết thanh kháng nọc rắn, 649
 Huyết thanh kháng uốn ván, 650
 Huyết thanh miễn dịch dùng cho người, 647
 Hương gia bì (Vỏ rễ), 790
 Hương nhu, 791
 Hương phụ (Thân rễ), 792
 Hướng dẫn đánh giá sinh khả dụng và tương đương sinh học in vivo các chế phẩm thuốc, PL-313
 Hy thiêm, 794
 Hydrazin sulfat (TT), PL-56
 Hydridantin (TT), PL-56
 Hydrochlorothiazid, 307
 Hydrocortison acetat, 310
 Hydrogen (TT), PL-56
 Hydrogen peroxyd (TT), PL-56
 Hydrogen sulfid (TT), PL-56
 Hydroquinon (TT), PL-56
 Hydroxocobalamin acetat, 314
 Hydroxocobalamin clorid, 315
 Hydroxocobalamin sulfat, 316
 4-Hydroxy-3-methoxy benzaldehyd (TT), PL-79
 Hydroxylamin hydroclorid (TT), PL-56
 2-Hydroxybenzaldehyd (TT), PL-72
 Hydroxyethylcellulose, 318
 Hydroxyethylmethylcellulose, 320
 Hydroxypropylcellulose, 321
 8-Hydroxyquinolin (TT), PL-57
 Hydroxyquinolin (TT), PL-57
 9-Hydroxyxanthen (TT), PL-79
 Hyoscin butylbromid, 322

I

Ibuprofen, 323
 Ích mẫu, 795

Ích trí (Quả), 796
 Imidazol (TT), PL-57
 Imidazol kết tinh lại (TT), PL-57
 Indomethacin, 325
 Interferon alpha 2, 650
 Iod, 328
 Iod (TT), PL-57
 Iod bromid (TT), PL-57
 Iod pentoxyd (TT), PL-57
 Iod pentoxyd kết tinh lại (TT), PL-57
 Iod triclорid (TT), PL-57
 Isoniazid, 328
 Iso-octan (TT), PL-78
 Isopropanol (TT), PL-58
 Isopropanol (TT₁), PL-58
 Isopropyl ether (TT), PL-49

K

Kali acetat (TT), PL-58
 Kali antimonat (V) (TT), PL-58
 Kali antimony oxyde (+)-tartrat (TT), PL-58
 Kali antimony tartrat (TT), PL-58
 Kali bicarbonat (TT), PL-59
 Kali biphtalat (TT), PL-58
 Kali bisulfat (TT), PL-59
 Kali bromat (TT), PL-58
 Kali bromid, 330
 Kali bromid (TT), PL-58
 Kali bromid tinh khiết IR (TT), PL-58
 Kali carbonat (TT), PL-58
 Kali carbonat khan (TT), PL-58
 Kali clorat (TT), PL-58
 Kali clorid, 331
 Kali clorid (TT), PL-58
 Kali cromat (TT), PL-58
 Kali cyanid (TT), PL-58
 Kali dicromat (TT), PL-59
 Kali dihydro citrat (TT), PL-59
 Kali dihydrophosphat (TT), PL-59
 Kali fericyanid (TT), PL-59
 Kali ferocyanid (TT), PL-59
 Kali hydrocarbonat (TT), PL-59
 Kali hydrophthalat (TT), PL-58
 Kali hydrosulfat (TT), PL-59
 Kali hydroxyd (TT), PL-59
 Kali iodat (TT), PL-60
 Kali iodid, 333
 Kali iodid (TT), PL-60
 Kali meta-periodat (TT), PL-60
 Kali periodat (TT), PL-60
 Kali permanganat, 333
 Kali permanganat (TT), PL-60
 Kali pyroantimonat (TT), PL-58

Kali sulfat (TT), PL-60
 Kali sulfocyanid (TT), PL-61
 Kali tetraoxalat (TT), PL-61
 Kali thiocyanat (TT), PL-61
 Kali trihydro dioxalat (TT), PL-61
 Kaolin nặng, 334
 Kaolin nhẹ, 335
 Kaolin nhẹ thiên nhiên, 336
 Ké đầu ngựa (Quả), 797
 Kê huyết đằng (Thân), 798
 Kê nội kim, 799
 Kem Aciclovir, 8
 Kem Clotrimazol, 194
 Kem Fluocinolon, 277
 Kem Ketoconazol, 340
 Kem Ketoconazol và Neomycin, 342
 Kẽm (TT), PL-61
 Kẽm bột (TT), PL-61
 Kẽm clorid (TT), PL-61
 Kẽm không có arsen (TT), PL-61
 Kẽm oxyd, 337
 Kẽm oxyd (TT), PL-61
 Kẽm sulfat, 338
 Kẽm sulfat (TT), PL-61
 Ketoconazol, 339
 Ketoprofen, 343
 Kha tử (Quả), 799
 Khiếm thực (Hạt), 800
 Khiếm thực nam, 731
 Khiên ngưu tử, 695
 Khoản đông hoa, 800
 Khoảng pH và màu chuyển của các chất chỉ thị (TT), PL-86
 Khô hạnh nhân, 801
 Khô sâm (Lá và cành), 802
 Khúc khắc, 904
 Khương hoàng, 838
 Khương hoạt (Thân rễ và rễ), 804
 Kim cúc, 731
 Kieselguhr (TT), PL-61
 Kieselguhr G (TT), PL-61
 Kim anh (Quả), 804
 Kim ngân (Cuộng), 805
 Kim ngân (Hoa), 806
 Kim tiền thảo, 806
 Kinh giới, 808

L

La bặc tử, 704
 Lá hen, 808
 Lá lốt, 809

Lạc tiên, 810
 Lactose, 345
 Lai phục tử, 704
 Lamivudin, 346
 Lanolin khan, 349
 Lanthan nitrat (TT), PL-61
 Lanthan oxyd (TT), PL-61
 Lanthan trioxyd (TT), PL-61
 Lấy mẫu dược liệu, PL-231
 Levomepromazin maleat, 350
 Levonogestrel, 353
 Levothyroxin natri, 355
 Lịch sử Dược điển nước Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam, xv
 Lidocain hydroclorid, 357
 Liên điệp, 882
 Liên kiều (Quả), 811
 Liên nhục, 881
 Liên tâm, 883
 Lincomycin hydroclorid, 359
 Lithi (TT), PL-62
 Lithi clorid (TT), PL-62
 Lithi sulfat (TT), PL-62
 Long đởm (Rễ và thân rễ), 812
 Long não, 122
 Long nhãn, 813
 Loperamid hydroclorid, 362
 Lô hội (Nhựa), 814
 Lộc nhung, 815
 Lời giới thiệu, xi
 Lời nói đầu, xiii
 Lục bromocresol (TT), PL-82
 Lục malachit (TT), PL-83
 Lức (Lá), 816
 Lức (Rễ), 816
 Luminal, 476
 Lương khương, 761
 Lưu huỳnh (TT), PL-62
 Lưu huỳnh kết tủa (TT), PL-62

M

Ma bàn thảo, 726
 Ma hoàng, 817
 Mã đề (Hạt), 818
 Mã đề (Lá), 819
 Mã tiền (Hạt), 819
 Mạch môn (Rễ), 821
 Mạch nha, 821
 (Các) Macrogol, 365
 Macrogol 200 (TT), PL-62
 Macrogol 200 (TT₁), PL-62
 Macrogol 1500 (TT), PL-71
 Magnesi (TT), PL-62

- Magnesi acetat (TT), PL-62
 Magnesi carbonat nặng, 367
 Magnesi carbonat nhẹ, 368
 Magnesi clorid, 368
 Magnesi clorid (TT), PL-62
 Magnesi clorid hexahydrat, 368
 Magnesi hydroxyd, 369
 Magnesi nitrat (TT), PL-62
 Magnesi oxyd (TT), PL-62
 Magnesi oxyd nặng (TT), PL-62
 Magnesi oxyd nhẹ (TT), PL-62
 Magnesi oxyd nhẹ, 371
 Magnesi stearat, 372
 Magnesi sulfat, 373
 Magnesi sulfat (TT), PL-62
 Magnesi trisilicat, 374
 Mai ba ba, 828
 Mai mực, 822
 Mai rùa và yếm rùa, 866
 Mâm xôi (Quả), 825
 Mạn kinh tử, 823
 Măng cụt (Vỏ quả), 824
 Màng mê gà, 799
 Mangan sulfat (TT), PL-62
 Mangiferin, 377
 Manitol, 378
 Mất trâu, 806
 Mất khối lượng do làm khô của các chất chiết được trong dược liệu, PL-241
 Mật ong, 825
 Mấu đơn bì (Vỏ rễ), 827
 Mấu lệ, 828
 Mebendazol, 380
 Mefloquin hydroclorid, 382
 Meloxicam, 384
 (±)-p-Menthan-3-ol (TT), PL-63
 (-)-p-Menthan-3-ol (TT), PL-62
 Menthol, 387
 (±) Menthol (TT), PL-63
 (-) Menthol (TT), PL-62
 Meprobamat, 388
 Mercurocrom, 389
 Metalphtalein (TT), PL-82
 Metformin hydroclorid, 390
 Methanol (TT), PL-63
 Methanol dùng cho phương pháp quang phổ (TT), PL-63
 Methanol khan (TT), PL-63
 DL-Methionin, 392
 4-Methoxybenzaldehyd (TT), PL-43
 4-Methylaminophenol sulphat (TT), PL-63
 2-Methyl-3-amino-7-dimethylaminophenazin hydroclorid (TT), PL-82
 4-Methylpentan-2-on (TT), PL-63
 Methyl acetat (TT), PL-63
 Methyl benzen (TT), PL-78
 Methyl caprat (TT), PL-63
 Methyl cyanid (TT), PL-35
 Methyl decanoat (TT), PL-63
 Methyl ethyl keton (TT), PL-45
 Methyl isobutyl ceton (TT), PL-63
 Methyl parahydroxybenzoat, 394
 Methyl salicylat, 385
 Methyl N-tosyl-L-argininat hydroclorid (TT), PL-78
 4-Methylbenzensulfonamid (TT), PL-78
 Methyldopa, 393
 Methylen clorid (TT), PL-49
 Methylparaben, 394
 Methylprednisolon, 397
 Methylprednisolon acetat, 401
 2-Methyl-2-propanol (TT), PL-45
 2-Methyl-propan-2-ol (TT), PL-45
 Metoclopramid, 403
 Metol (TT), PL-63
 Metronidazol, 405
 Miconazol, 408
 Miên tỳ giải, 927
 Miết giáp, 828
 Mò hoa trắng, 829
 Mordant black 17 (TT), PL-80
 Mordant black 11 (TT), PL-81
 Morphin hydroclorid, 410
 Mộc hoa trắng, 832
 Mộc hương (Rễ), 830
 Mộc miết tử, 770
 Mộc qua (Quả), 831
 Mộc tặc, 833
 Môi trường dùng để phát hiện vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí và nấm, PL-323
 Một dược (Gôm nhựa), 834
 Mơ muối, 830
 Mực hoa trắng, 823
 Mục lục tra cứu theo tên Latin, ML-35
 Mục lục tra cứu theo tên Việt Nam, ML-1
 Muối Berthollet (TT), PL-58
 Muối monoamoni 5,5'-nitrilobis[pirimidin-2,4,6-(1H,3H,5H)trio] của acid purpuric (TT), PL-83
 Muối natri của acid cromotropic (TT), PL-63
 Muối natri của acid octansulfonic (TT), PL-67
 Muối natri của N-clorobenzen sulfonamid (TT), PL-47
 Muối natri của N-clorotoluen-p-sulfonamid (TT), PL-47
 Muối Seignette (TT), PL-66
 Muối tetrazoli lam (TT), PL-75
 Muồng trâu (Lá), 835
 Murexid (TT), PL-83

N

- Nam tỷ bà, 808
 Nang Acetylcystein, 5
 Nang Alverin, 38
 Nang Amoxicilin, 49
 Nang Ampicilin, 59
 Nang Artemether, 62
 Nang Artemisinin, 64
 Nang Azithromycin, 77
 Nang Cefaclor, 129
 Nang Cefadroxil, 131
 Nang Cefradin, 143
 Nang Cephalexin, 152
 Nang Clarithromycin, 170
 Nang Clindamycin, 175
 Nang Clorâmphenicol, 179
 Nang Cloxacilin, 196
 Nang Doxycyclin, 235
 Nang Erythromycin stearat, 257
 Nang Fluconazol, 275
 Nang Indomethacin, 326
 Nang Ketoprofen, 344
 Nang Lincomycin, 360
 Nang Loperamid, 363
 Nang màng Progesteron, 517
 Nang màng Vitamin A và D, 542
 Nang màng Vitamin A, 542
 Nang màng Vitamin E, 621
 Nang Ofloxacin, 448
 Nang Omeprazol, 451
 Nang Paracetamol, 464
 Nang Piracetam, 495
 Nang Piroxicam, 497
 Nang Rifampicin, 547
 Nang Rifampicin và Isoniazid, 548
 Nang Sulpirid, 591
 Nang Tetracyclin hydroclorid, 600
 Naphazolin nitrat, 412
 Naphtalen (TT), PL-63
 Naphthalen-1,3-diol (TT), PL-49
 Naphthoresorcin (TT), PL-49
 1-Naphtholbenzein (TT), PL-83
 N-(1-naphthyl)-ethylendiamin dihydroclorid (TT), PL-63
 1-Naphthylamin (TT), PL-63
 1-Naphtol (TT), PL-64
 2-Naphtol (TT), PL-64
 α -Naphtol (TT), PL-64
 β -Naphtol (TT), PL-64
 α -Naphtholbenzein (TT), PL-83
 Naphthylamin (TT), PL-63
 Natri (TT), PL-64
 Natri acetat (TT), PL-64
 Natri azid (TT), PL-64
 Natri benzoat, 413
 Natri benzoat (TT), PL-64
 Natri bicarbonat (TT), PL-65
 Natri bismuthat (TT), PL-64
 Natri bisulfat (TT), PL-65
 Natri borohydrid (TT), PL-68
 Natri bromid, 414
 Natri butansulfonat (TT), PL-64
 Natri calci edetat, 415
 Natri camphosulfonat, 416
 Natri carbonat khan (TT), PL-64
 Natri citrat, 416
 Natri citrat (TT), PL-64
 Natri clorid, 417
 Natri clorid (TT), PL-65
 Natri cobaltinitrit (TT), PL-65
 Natri dihydrophosphat (TT), PL-65
 Natri dihydrophosphat khan (TT), PL-65
 Natri 4'-dimethylaminoazobenzen-4-sulfonat (TT), PL-80
 Natri dithionit (TT), PL-65
 Natri docusat (TT), PL-51
 Natri dodecyl sulfat (TT), PL-66
 Natri edetat (TT), PL-78
 Natri fluorid (TT), PL-65
 Natri heptansulfonat (TT), PL-65
 Natri hydrocarbonat, 420
 Natri hydrocarbonat (TT), PL-65
 Natri hydrosulfat (TT), PL-65
 Natri 2-hydroxy-1-[(1-hydroxy-naphth-2-yl)azo]-6-nitronaphthalen-4-sulfonat (TT), PL-81
 Natri hydroxyd (TT), PL-65
 Natri hypobromit (dung dịch) (TT), PL-66
 Natri hypoclorit (dung dịch) (TT), PL-66
 Natri hypophosphit (TT), PL-66
 Natri kali tartrat (TT), PL-66
 Natri lauryl sulfat (TT), PL-66
 Natri metabisulfit (TT), PL-66
 Natri metaperiodat (TT), PL-67
 Natri molybdat (TT), PL-66
 Natri nitrit (TT), PL-66
 Natri nitroprusiat (TT), PL-66
 Natri nitroprussid (TT), PL-66
 Natri octansulfonat (TT), PL-67
 Natri pentansulfonat (TT), PL-67
 Natri 1-pentansulfonat (TT), PL-67
 Natri perclorat (TT), PL-67
 Natri periodat (TT), PL-67
 Natri 3-[4-(phenylamino) phenylazo]-benzensulphonat (TT), PL-85
 Natri phosphat, tribasic (TT), PL-67
 Natri phosphinat monohydrat (TT), PL-66
 Natri triphosphat (TT), PL-67
 Natri pyrosulfit (TT), PL-66

Natri salicylat, 421
 Natri sulfacetamid, 422
 Natri sulfat, 423
 Natri sulfat (TT), PL-67
 Natri sulfat khan, 424
 Natri sulfat khan (TT), PL-67
 Natri sulfid (TT), PL-67
 Natri (+)-tartrat (TT), PL-67
 Natri tetraborat (TT), PL-68
 Natri tetrahydroborat (TT), PL-68
 Natri tetraphenylborat (TT), PL-68
 Natri thiopental và natri carbonat, 425
 Natri thiosulfat (TT), PL-68
 Natri thiosulfat, 426
 Natri tungstat (TT), PL-68
 Neomycin sulfat, 427
 Nga truật (Thân rễ), 836
 Ngải cứu, 837
 Ngải tím, 836
 Nghệ (Thân rễ), 838
 Nghệ (TT), PL-68
 Nghệ đen, 836
 Ngọc trúc (Thân rễ), 840
 Ngô công, 841
 Ngô thù du (Quả), 841
 Ngũ bội tử, 842
 Ngũ gia bì chân chim (Vỏ thân, vỏ cành), 843
 Ngũ gia bì gai (Vỏ rễ, vỏ thân), 844
 Ngũ vị tử, 845
 Ngưu tinh thảo, 740
 Nguru bàng (Quả), 846
 Nguru bàng tử, 846
 Nguru tất (Rễ), 847
 Nguyên hồ, 739
 Nha đam tử, 848
 Nhân sâm (Rễ), 850
 Nhân sâm Phú Yên, 877
 Nhân trần, 852
 Nhân trần tía, 853
 Nhàu (Quả), 848
 Nhàu (Rễ), 850
 Nhiệt kế, PL- 108
 Nhót Nhật Bản, 926
 Nhót tây, 926
 Nhôm - nickel hợp kim (TT), PL-70
 Nhôm (Dây) (TT), PL-68
 Nhôm clorid (TT), PL-68
 Nhôm clorid hexahydrat (TT), PL-68
 Nhôm hydroxyd khô, 429
 Nhôm kali sulfat dodecahydrat (TT), PL-70
 Nhôm nitrat (TT), PL-68
 Nhôm phosphat khô, 430
 Nhũ hương (Gôm nhựa), 854
 Nhũ tương thuốc, PL-12

Nhựa trao đổi ion acid mạnh (TT), PL-68
 Nhục đậu khấu (Hạt), 854
 Nhục thung dung (Thân), 855
 Nhung hươu, 815
 Những qui định chung về kiểm tra chất lượng dược liệu, PL-231
 Nickel (II) sulfat (TT), PL-68
 Niclosamid monohydrat, 431
 Nicotinamid, 433
 Nicotinamid-adenin dinucleotid (TT), PL-68
 Nifedipin, 435
 Nikethamid, 437
 Ninhydrin (TT), PL-68
 Nipagin M, 394
 Nipasol M, 523
 p-Nitroanilin (TT), PL-69
 Nitrobenzaldehyd (TT), PL-69
 Nitrobenzen (TT), PL-69
 Nitrobenzoyl clorid (TT), PL-69
 Nitrofurantoin, 438
 Nitrogen (TT), PL-69
 Nitrogen dùng cho sắc ký khí (TT), PL-69
 2-Nitrobenzaldehyd (TT), PL-69
 Nitromethan (TT), PL-69
 4-Nitro-4'-oxyazobenzen-3'-natri carboxylat (TT), PL-84
 Nivaquin phosphat, 186
 Norfloxacin, 439
 Nội dung, xi
 Núc nác (Vỏ thân), 856
 Nút cao su dùng cho chai đựng thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền, PL-370
 Nước (TT), PL-69
 Nước brom (TT), PL-45
 Nước cất, 441
 Nước cất (TT), PL-70
 Nước clor (TT), PL-47
 Nước dùng cho sắc ký (TT), PL-70
 Nước để pha thuốc tiêm, 441
 Nước không có amoni (TT), PL-69
 Nước không có amoniac (TT), PL-69
 Nước không có các tiểu phân (TT), PL-70
 Nước không có carbon dioxyd (TT), PL-69
 Nước không có nitrat (TT), PL-70
 Nước muối sinh lý (TT), PL-70
 Nước oxy già đậm đặc, 441
 Nước oxy già loãng 3 %, 442
 Nước oxy già loãng 10%, 442
 Nước tinh khiết, 443
 Nước trao đổi ion (TT), PL-70
 Nước vô khuẩn để tiêm, 444
 Nystatin, 445

O

Ofloxacin, 447
 Omeprazol, 450
 Oracet lam 2R (TT), PL-70
 Oresol, 453
 Oxiran (TT), PL-54
 Oxygen, 455
 Oxymetazolin hydroclorid, 457
 Oxytetracyclin dihydrat, 458

Ô

Ô được (Rễ), 858
 Ô đầu (Rễ củ), 857
 Ô tặc cốt, 822
 Ống nghiệm dùng trong các phép thử so sánh, PL-172

P

Paladi (TT), PL-70
 Papaverin hydroclorid, 460
 Paracetamol, 462
 Pararosanilin hydroclorid (TT), PL-70
 Pentan (TT), PL-70
 n-Pentan (TT), PL-70
 Pentan dùng cho phương pháp quang phổ (TT), PL-70
 Pentan-1-ol (TT), PL-70
 n-Pentanol (TT), PL-70
 Pentanol (TT), PL-70
 Pepsin, 471
 Pethidin hydroclorid, 473
 Phá cổ chỉ, 700
 Phát hiện Mycobacteria gây bệnh, PL-324
 Phát hiện mycoplasma bằng phương pháp nuôi cấy, PL-350
 Phần phòng kỹ, 859
 Phân tích thống kê kết quả định lượng sinh học, PL-283
 Phản ứng màu của các penicilin và các cephalosporin, PL-171
 Phèn chua (TT), PL-70
 Phèn sắt amoni (TT), PL-84
 1,10 - Phenanthrolin hydroclorid (TT), PL-83
 O-Phenanthrolin (TT), PL-83
 Phenazon (TT), PL-70
 Phenobarbital, 475
 Phenol, 477
 Phenol (TT), PL-70
 Phenolphthalein (TT), PL-83
 Phenolsulfonphthalein (TT), PL-81
 Phenoxyethanol (TT), PL-71
 2-Phenoxyethanol (TT), PL-71
 Phenoxymethylpenicilin, 477

Phenoxymethylpenicilin kali, 480
 1-(4-phenylazophenylazo)-2-naphthol (TT), PL-74
 Phenylbis(4-hydroxynaphthyl)-methanol (TT), PL-83
 p-Phenylendiamin dihydroclorid (TT), PL-71
 Phenylhydrazin hydroclorid (TT), PL-71
 Phenylpropanolamin hydroclorid, 482
 Phenytoin, 483
 Phép thử các chất hạ áp, PL-255
 Phép thử chất gây sốt, PL-257
 Phép thử độ đồng đều hàm lượng, PL-220
 Phép thử độ đồng đều khối lượng, PL-221
 Phép thử độ hòa tan của viên nén và nang, PL-222
 Phép thử độ rã của thuốc đạn và thuốc trứng, PL-225
 Phép thử độ rã của viên bao tan trong ruột, PL-227
 Phép thử độ rã của viên nén và nang, PL-226
 Phép thử histamin, PL-250
 Phép thử nội độc tố vi khuẩn, PL-250
 Phép thử xác định chiết kiệt alcaloid, PL-232
 Phễu lọc thủy tinh xếp, PL-110
 Phosphor pentoxyd (TT), PL-71
 Phòng đẳng sâm, 753
 Phòng kỹ, 859
 Phòng kỹ bắc, 859
 Phòng phong (Rễ), 859
 Phở hồng ngoại, P-1
 Phthalaldehyd (TT), PL-71
 Phthalylsulfathiazol, 485
 Phụ tử, 860
 Phục linh, 862
 Phương pháp chế biến đông dược, PL-246
 Phương pháp chuẩn độ bằng nitrit, PL-186
 Phương pháp chuẩn độ complexon, PL-187
 Phương pháp chuẩn độ đo ampe, PL-184
 Phương pháp chuẩn độ đo điện thế, PL-184
 Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan, PL-187
 Phương pháp điện di, PL-134
 Phương pháp điện di mao quản, PL-138
 Phương pháp lấy mẫu và lưu mẫu, PL-327
 Phương pháp phân tích acid amin, PL-193
 Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến, PL-112
 Phương pháp quang phổ hồng ngoại, PL-114
 Phương pháp quang phổ huỳnh quang, PL-116
 Phương pháp quang phổ nguyên tử phát xạ và hấp thụ, PL-116
 Phương pháp sắc ký giấy, PL-124
 Phương pháp sắc ký khí, PL-125
 Phương pháp sắc ký lỏng, PL-127
 Phương pháp sắc ký lớp mỏng, PL-129
 Phương pháp sắc ký rây phân tử, PL-131
 Phytomenadion, 487
 Pilocarpin nitrat, 490
 Piperazin adipat, 491
 Piperazin citrat, 492
 Piperazin hydrat, 493

Piperazin phosphat, 494
 Piperidin (TT), PL-71
 Piracetam, 494
 Piroxicam, 496
 Poly(dimethyl)siloxan (TT), PL-71
 Polyethylen glycol 200 (TT), PL-62
 Polyethylen glycol 200 (TT₁), PL-62
 Polyethylen glycol 1500 (TT), PL-71
 Polysorbat 20, 499
 Polysorbat 60, 499
 Polysorbat 80, 500
 Polysorbat 80 (TT), PL-71
 Povidon, 502
 Povidon iod, 505
 Praziquantel, 506
 Prednisolon, 508
 Prednison, 510
 Primaquin diphosphat, 512
 Procain hydroclorid, 514
 Procainamid hydroclorid, 516
 Progesteron, 517
 Promethazin hydroclorid, 519
 Propan-1-ol (TT), PL-71
 Propan-2-ol (TT₁), PL-58
 Propan-2-ol (TT), PL-58
 Propan-2-on (TT), PL-35
 Propan-1,2,3 triol (TT), PL-55
 Propanol (TT), PL-71
 Propranolol hydroclorid, 521
 n-Propyl alcol (TT), PL-71
 Propyl parahydroxybenzoat, 523
 Propylparaben, 523
 Propylthiouracil, 524
 Pyrantel pamoat, 526
 Pyrazinamid, 527
 Pyridin (TT), PL-72
 Pyridoxin hydroclorid, 529
 Pyrimethamin, 531
 Pyrocatechinsulfonphthalein (TT), PL-84
 Pyrocatechol (TT), PL-72
 Pyrogallol (TT), PL-72

Q

Qua lâu (Hạt), 863
 Qua lâu (Quả), 864
 Qua lâu tử, 863
 Quan âm biển, 823
 Quế (Cành), 864
 Quế (Vỏ thân, vỏ cành), 865
 Quế chi, 864
 Qui định chung, xli
 Qui định đối với tạp chất là dung môi tồn dư, PL-210
 Qui giáp và qui bản, 866

Quinin bisulfat, 532
 Quinin dihydroclorid, 534
 Quinin hydroclorid, 536
 Quinin sulfat, 537
 Quinol (TT), PL-56
 Quinolin-8-ol (TT), PL-57
 Quỳ (TT), PL-83

R

Ranitidin hydroclorid, 539
 Rau má, 867
 Rau sam, 868
 Râu mèo, 869
 Rẻ quạt (Thân rễ), 870
 Resorcin (TT), PL-72
 Retinol tổng hợp đậm đặc dạng bột, 541
 Retinol tổng hợp đậm đặc dạng dầu, 541
 Rễ kế, 924
 Rhodamin B (TT), PL-72
 Riboflavin, 543
 Riboflavin natri phosphat, 544
 Riềng (Thân rễ), 871
 Riềng lá nhọn, 796
 Rifampicin, 546
 Rong mơ, 872
 Rotundin, 551
 Roxithromycin, 552
 Rửa dụng cụ thủy tinh, PL-111
 Rượu thuốc, PL-32
 Rutin, 555
 Rutosid, 555

S

Sa nhân (Quả), 872
 Sa sâm (Rễ), 873
 Sa sâm bắc, 873
 Sài đất, 874
 Sài hồ (Rễ), 875
 Sài hồ nam, 816
 Salbutamol, 558
 Salicylaldehyd (TT), PL-72
 Salicylaldehyd azin (TT), PL-72
 Sáp ong trắng, 876
 Sáp ong vàng, 876
 Sắn dây (Rễ củ), 880
 Sắt (II) sulfat, 565
 Sắt (II) sulfat (TT), PL-73
 Sắt (II) sulfat khô, 567
 Sắt (III) amoni sulfat (TT), PL-84
 Sắt (III) clorid (TT), PL-72
 Sắt (III) nitrat (TT), PL-73

Sắt fumarat, 560
 Sắt oxyd, 563
 Sâm bổ chính (Rễ), 877
 Sâm cau, 879
 Sâm cau (Thân rễ), 878
 Sâm đại hành (Thân hành), 879
 Sâm gỗ, 710
 Sâm K5, 879
 Sâm nam, 710
 Sâm Ngọc Linh, 879
 Sâm Việt Nam (Thân rễ và rễ), 879
 Sầu châu cứt chuột, 848
 Selen (TT), PL-73
 Sen (Cây mầm), 883
 Sen (Hạt), 881
 Sen (Lá), 882
 Silica gel G (TT), PL-73
 Silica gel GF₂₅₄ (TT), PL-73
 Silica gel H (TT), PL-73
 Silica gel HF₂₅₄ (TT), PL-73
 Silica gel khan (TT), PL-73
 Silicone gum rubber (methyl) (TT), PL-71
 Sinh địa, 760
 Sirô thuốc, PL-11
 Solochrom dark blue (TT), PL-80
 Sorbitol, 567
 Sơn liên ngẫu, 710
 Sơn thù (Quả), 884
 Sơn thù du, 884
 Sơn tra (Quả), 885
 Spartein sulfat, 569
 Spectinomycin hydroclorid, 571
 Spiramycin, 572
 Squalan (TT), PL-74
 Stearyl alcol, 575
 Stibi triclôrid (TT), PL-44
 Streptomycin sulfat, 575
 Strychnin sulfat, 579
 Sudan đỏ, PL-74
 Sudan III, PL-74
 Sulfadiazin, 580
 Sulfadimidin, 581
 Sulfadoxin, 582
 Sulfaguanidin, 584
 Sulfamethoxazol, 586
 Sulfamethoxypyridazin, 588
 Sulfathiazol, 589
 Sulpirid, 590

T

Tai hồng, 899
 Tam nại, 836
 Tam thất (Rễ củ), 886

Tang bạch bì, 737
 Tang chi, 735
 Tang diệp, 736
 Tang ký sinh, 887
 Tang thâm, 737
 Tanin (TT), PL-74
 Táo (Hạt), 888
 Táo nhân, 888
 Tartrazin, 592
 Tắc kè, 889
 Tầm vôi, 889
 Tầm sen, 883
 Tầm gửi, 890
 Tầm gửi trên cây dâu, 887
 Tần giao (Rễ), 891
 Tất bát (Quả), 892
 Tenoxicam, 593
 Terfenadin, 595
 Terpin hydrat, 596
 3',3'',5',5''-Tetrabromo-m-cresolsulfonphthalein, PL-82
 3,3'-5,5' Tetrabromophenolsulfonphthalein, PL-85
 Tetrabutylammoni hydroxyd (TT), PL-74
 Tetrabutylamoni hydrosulfat (TT), PL-74
 Tetrabutylamoni iodid (TT), PL-74
 Tetracain hydroclorid, 597
 Tetrachloroethan (TT), PL-74
 1,1,2,2-Tetracloroethan (TT), PL-74
 Tetracloromethan (TT), PL-46
 Tetracyclin hydroclorid, 598
 n-Tetradecan (TT), PL-74
 Tetradecylamoni bromid (TT), PL-74
 Tetraheptylamoni bromid (TT), PL-74
 Tetrahydrofuran (TT), PL-74
 L-Tetrahydropalmitin, 551
 Tetramethylen oxyd (TT), PL 74
 Tetrahydrofuran dùng cho phương pháp quang phổ (TT), PL-74
 Tetramethylamoni hydrosulfat (TT), PL-74
 Tetramethylamoni hydroxyd pentahydrat (TT), PL-75
 Tetranatri 3,3'- (3H - 2, 1 - benzoxathiol - 3 - ylidien) bis [(6 - hydroxy - 5 - methyl - 3, 1 - phenylen) methy-leneiminobisacetat] S, S - dioxid (TT), PL-80
 Tetrazoli lam (TT), PL-75
 Thạch cao, 893
 Thạch hộc (Thân), 894
 Thạch trắng (TT), PL-75
 Thạch xương bồ lá to, 936
 THAM (TT), PL-79
 Than hoạt tính, 603
 Thanh cao hoa vàng (Lá), 895
 Thanh hao, 896
 Thanh hao hoa vàng, 895
 Thảo quả (Quả), 898
 Thảo quyết minh (Hạt), 898
 Thăng ma (Thân rễ), 897

- Theophylin, 605
 Theophylin ethylendiamin, 42
 Thị đế, 899
 Thiamin hydroclorid, 606
 Thiamin nitrat, 609
 Thiazol yellow (TT), PL-85
 Thích tật lê, 692
 Thiếc (TT), PL-75
 Thiếc (II) clorid (TT), PL-75
 Thiếc hạt (TT), PL-75
 Thiên đông, 900
 Thiên ma (Thân rễ), 900
 Thiên môn đông (Rễ), 900
 Thiên niên kiện (Thân rễ), 901
 Thiên trúc hoàng, 902
 Thiên liên, 761
 Thioacetamid (TT), PL-75
 Thioure (TT), PL-75
 Thỏ ty tử, 902
 Thỏ cam thảo, 706
 Thỏ hào sâm, 877
 Thỏ hoàng liên (Thân rễ), 903
 Thỏ phục linh (Thân rễ), 904
 Thông thảo (Lõi thân), 905
 Tế tân, 893
 Thực địa, 906
 Thuốc bột y tế, PL-31
 Thuốc bột, PL-13
 Thuốc bột Acetylcystein, 7
 Thuốc bột Aspartam, 70
 Thuốc bột Azithromycin, 78
 Thuốc bột Cefadroxil, 132
 Thuốc bột Cephalixin, 153
 Thuốc bột Natri hydrocarbonat, 421
 Thuốc bột Roxithromycin, 554
 Thuốc bột Sorbitol, 569
 Thuốc bột uống bù dịch, 453
 Thuốc côm, PL-14
 Thuốc dán thấm qua da và thuốc dán tác dụng tại chỗ, PL-15
 Thuốc đặt, PL-17
 Thuốc đỏ, 389
 Thuốc giọt Nikethamid, 438
 Thuốc hít, PL-23
 Thuốc hoàn, PL-17
 Thuốc khí dung, PL-24
 Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc, PL-18
 Thuốc mỡ Acid boric 10%, 17
 Thuốc mỡ Benzosali, 15
 Thuốc mỡ Hydrocortison acetat, 312
 Thuốc mỡ Kẽm oxyd, 337
 Thuốc mỡ Nystatin, 446
 Thuốc mỡ tra mắt Tetracyclin hydroclorid, 601
 Thuốc nang, PL-20
 Thuốc nhỏ mắt, PL-21
 Thuốc nhỏ mắt Ciprofloxacin, 167
 Thuốc nhỏ mắt Cloramphenicol, 180
 Thuốc nhỏ mắt Gentamycin, 284
 Thuốc nhỏ mắt Hydrocortison và neomycin, 313
 Thuốc nhỏ mắt Kẽm sulfat, 338
 Thuốc nhỏ mắt Natri clorid 0,9 %, 419
 Thuốc nhỏ mắt Neomycin, 428
 Thuốc nhỏ mắt Ofloxacin, 449
 Thuốc nhỏ mũi Oxymetazolin, 458
 Thuốc nhỏ mũi và thuốc xịt mũi dạng lỏng, PL-22
 Thuốc nhỏ mũi Xylometazolin, 637
 Thuốc nhỏ tai và thuốc xịt vào tai, PL-23
 Thuốc thang, PL-33
 Thuốc thử acid aminomethylalirazin-N,N-diacetic (TT), PL-36
 Thuốc thử anhydrid propionic (TT), PL-43
 Thuốc thử antimony triclорid (TT), PL-44
 Thuốc thử Bouchardat (TT), PL-57
 Thuốc thử Bertrand (TT), PL-39
 Thuốc thử Diazo (TT), PL-76
 Thuốc thử Diazo p-nitroanilin (TT), PL-69
 Thuốc thử Diphenylcarbazon - thủy ngân (TT), PL-52
 Thuốc thử Dragendorff (TT), PL-76
 Thuốc thử Erdmann (TT), PL-76
 Thuốc thử Fehling (TT), PL-76
 Thuốc thử Folin ciocalteau phenol (TT), PL-76
 Thuốc thử gelatin - natri clorid (TT), PL-55
 Thuốc thử imidazol thủy ngân (TT), PL-57
 Thuốc thử iodoplatinat (TT), PL-76
 Thuốc thử kali iodobismuthat (TT₁), PL-76
 Thuốc thử kali iodobismuthat loãng (TT), PL-76
 Thuốc thử kẽm dithiol (TT), PL-76
 Thuốc thử Mayer (TT), PL-76
 Thuốc thử methylaminophenol - sulfit (TT), PL-76
 Thuốc thử molybdovanadic (TT), PL-76
 Thuốc thử Nessler (TT), PL-76
 Thuốc thử ninhydrin - thiếc clorid (TT), PL-69
 Thuốc thử phosphomolybdotungstic (TT), PL-76
 Thuốc thử phthalaldehyd (TT), PL-71
 Thuốc thử pyridin - anhydrid acetic (TT), PL-76
 Thuốc thử Schweitzer (TT), PL-76
 Thuốc thử Stiasny (TT), PL-54
 Thuốc thử Tilé (TT), PL-66
 Thuốc thử titan (III) clorid - acid sulfuric (TT), PL-77
 Thuốc thử titan (III) triclорid - acid sulfuric (TT), PL-77
 Thuốc thử Tween-80 (TT), PL-71
 Thuốc thử vanilin trong acid sulfuric (TT), PL-79
 Thuốc thử vanilin-acid sulfuric (TT), PL-79
 Thuốc tiêm Acid ascorbic, 13
 Thuốc tiêm Adrenalin, 30
 Thuốc tiêm Aminophylin, 43
 Thuốc tiêm Atropin sulfat, 74
 Thuốc tiêm Cafein và natri benzoat, 110

- Thuốc tiêm Calci clorid 10%, 113
 Thuốc tiêm Calci gluconat, 116
 Thuốc tiêm Clorpromazin hydroclorid, 191
 Thuốc tiêm Cyanocobalamin, 204
 Thuốc tiêm Dexamethason, 213
 Thuốc tiêm Diclofenac natri, 223
 Thuốc tiêm Ephedrin hydroclorid, 248
 Thuốc tiêm Epinephrin, 30
 Thuốc tiêm Gentamycin, 285
 Thuốc tiêm Glucose, 295
 Thuốc tiêm Hydrocortison acetat, 311
 Thuốc tiêm Hydroxocobalamin, 317
 Thuốc tiêm Kali clorid, 332
 Thuốc tiêm Lidocain, 358
 Thuốc tiêm Lincomycin, 361
 Thuốc tiêm Methylprednisolon acetat, 402
 Thuốc tiêm Morphin hydroclorid, 411
 Thuốc tiêm Natri bicarbonat, 421
 Thuốc tiêm Natri clorid, 419
 Thuốc tiêm Procain hydroclorid, 515
 Thuốc tiêm Progesteron, 518
 Thuốc tiêm Pyridoxin hydroclorid, 530
 Thuốc tiêm Quinin dihydroclorid, 535
 Thuốc tiêm Spartein sulfat, 570
 Thuốc tiêm Thiamin hydroclorid, 608
 Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền, PL-27
 Thuốc tiêm truyền Glucose, 295
 Thuốc tiêm truyền Metronidazol, 406
 Thuốc tiêm truyền Natri clorid đẳng trương, 419
 Thuốc tiêm Vitamin B₁, 608
 Thuốc tiêm Vitamin B₆, 529
 Thuốc tiêm Vitamin C, 13
 Thuốc viên nén, PL-29
 Thử độc tính bất thường, PL-257
 Thử giới hạn nhiễm khuẩn, PL-258
 Thử nghiệm nhận dạng huyết thanh miễn dịch, PL-325
 Thử nghiệm nhận dạng thành phần Bạch hầu - uốn ván - ho gà trong vắc xin DTWP hấp phụ, PL-332
 Thủy ngân (II) acetat (TT), PL-77
 Thủy ngân (II) bromid (TT), PL-77
 Thủy ngân (II) clorid (TT), PL-77
 Thủy ngân (II) nitrat (TT), PL-77
 Thủy ngân (II) sulfat (TT), PL-77
 Thủy ngân diclorid (TT), PL-77
 Thủy ngân oxyd vàng (TT), PL-77
 Thủy xương bò, 936
 Truyền thoát, 906
 Thử vô khuẩn, PL-266
 Tủng mục lá to, 832
 Thương lục (Rễ củ), 907
 Thương nhĩ tử, 797
 Thương truyệt, 908
 Thymolphthalein (TT), PL-84
 Thymolsulfonphthalein (TT), PL-85
 Tía tô (Lá), 909
 Tía tô (Quả), 910
 Tía tô (Thân), 910
 Tiền hồ (Rễ), 911
 Tiên mao, 878
 Tiêu dài, 892
 Tiêu lá tim, 892
 Tiêu lốt, 892
 Tiêu thất, 892
 Tiểu hồi (Quả), 912
 Tiểu kinh giới, 808
 Tím catechol (TT), PL-84
 Tím pyrocatechin (TT), PL-84
 Tím tinh thể (TT), PL-84
 Timolol maleat, 612
 Tinh bột, 613
 Tinh bột (TT), PL-84
 Tinh dầu Bạc hà, 913
 Tinh dầu Bạch đàn, 914
 Tinh dầu Hồi, 914
 Tinh dầu Hương nhu trắng, 915
 Tinh dầu Long não, 916
 Tinh dầu Quế, 916
 Tinh dầu Tràm, 917
 Tinh tuyết thảo, 867
 Tinidazol, 614
 Titan (TT), PL-77
 Titan (III) clorid (TT), PL-77
 Titan dioxyd, 616
 Titan triclорid (TT), PL-77
 Toluен sulfonamid (TT), PL-78
 p-Toluensulfonamid (TT), PL-78
 Toàn táo nhân, 888
 Toàn yết, 918
 Tobramycin, 617
 Tóc tiên leo, 900
 All-Rac-Alpha Tocopherol, 618
 All-Rac-Alpha Tocopherol acetat, 620
 Tỏi (Cần hành), 918
 Tỏi lỏ, 879
 Tolbutamid, 622
 Toluен (TT), PL-78
 Toluен-p-sulfonamid (TT), PL-78
 Tosylarginin methyl ester hydroclorid (TT), PL-78
 Tô điệp, 909
 Tô mộc (Gỗ), 919
 Tô ngành, 910
 Tô tử, 910
 Trắc bá, 921
 Trắc bách điệp, 921
 Trạch tả (Thân rễ), 920
 Tràm (Cành, lá), 920
 Trần bì, 922
 Tri mẫu (Thân rễ), 923

Tributyl orthophosphat (TT), PL-78
 Tributyl phosphat (TT), PL-78
 Tricloromethan, 185
 Tricloromethan (TT), PL-48
 Triethanolamin (TT), PL-78
 Triethylamin (TT), PL-78
 Triethylendiamin (TT), PL-78
 Trihexyphenidyl hydroclorid, 624
 Trilon B (TT), PL-78
 Trimethoprim, 626
 Trimethylpentan (TT), PL-78
 Trimethylpentan dùng cho phương pháp quang phổ (TT), PL-78
 Trinatri orthophosphat (TT), PL-67
 Trinatri phosphat dodeca-hydrat (TT), PL-67
 2,4,6-Trinitrophenol, PL-39
 Triphenyl tetrazoli clorid (TT), PL-78
 2,3,5- Triphenyl tetrazolium clorid (TT), PL-78
 Tris(hydroxymethyl)aminomethan (TT), PL-79
 Tris(hydroxymethyl)methylamin (TT), PL-79
 Trometamol (TT), PL-79
 Trữ ma căn, 769
 Tuberculin PPD, 652
 Tục đoạn (Rễ), 924
 Tử uyển (Rễ), 926
 Tỳ bà (Lá), 926
 Tỳ giải (Thân rễ), 927

U

Uất kim, 838
 Uranyl acetat (TT), PL-79
 Ure (TT), PL-79
 Urotropin (TT), PL-79
 Uy linh tiên (Rễ), 928

V

Vanadi oxyd (TT), PL-52
 Vancomycin hydroclorid, 628
 Vàng alizarin (TT), PL-84
 Vàng clorid (TT), PL-79
 Vàng đắng (Thân), 929
 Vàng metanil (TT), PL-85
 Vàng titan (TT), PL-85
 Vanilin, 630
 Vanilin (TT), PL-79
 Vaselin, 630
 Vắc xin bạch hầu hấp phụ, 654
 Vắc xin bạch hầu, uốn ván hấp phụ dùng cho người lớn và vị thành niên, 659
 Vắc xin bạch hầu-ho gà-uốn ván hấp phụ (DTwP), 656
 Vắc xin bại liệt bất hoạt (IPV), 661

Vắc xin bại liệt uống, 662
 Vắc xin BCG, 663
 Vắc xin đại tể bào dùng cho người, 664
 (Các) Vắc xin dùng cho người, 653
 Vắc xin sởi, 666
 Vắc xin tả uống bất hoạt, 667
 Vắc xin thương hàn uống, 669
 Vắc xin thương hàn Vi polysaccharid, 672
 Vắc xin uốn ván hấp phụ, 674
 Vắc xin viêm gan B điều chế từ huyết tương người, 677
 Vắc xin viêm gan B tái tổ hợp (rDNA), 675
 Vắc xin viêm não Nhật Bản, 678
 Vẩy rồng, 806
 Vẩy Tê tê, 935
 Vẩy Trút, 935
 Victoria green (TT), PL-83
 Viên đặt Nystatin, 445
 Viên đặt Paracetamol, 466
 Viên chí (Rễ), 930
 Viên nén Acetazolamid, 4
 Viên nén Aciclovir, 9
 Viên nén Acid acetylsalicylic, 11
 Viên nén Acid ascorbic, 14
 Viên nén Acid folic, 19
 Viên nén Acid mefenamic, 23
 Viên nén Acid nalidixic, 25
 Viên nén Albendazol, 32
 Viên nén Alimemazin, 34
 Viên nén Alopurinol, 36
 Viên nén Aminophylin, 43
 Viên nén Amoxicilin, 50
 Viên nén Amoxicilin và acid clavulanic, 51
 Viên nén Artemether, 63
 Viên nén Artemisinin, 65
 Viên nén Artesunat, 68
 Viên nén Aspirin, 11
 Viên nén Atenolol, 72
 Viên nén Atropin sulfat, 75
 Viên nén Berberin clorid, 93
 Viên nén Betamethason, 95
 Viên nén Biotin, 101
 Viên nén Bisacodyl, 102
 Viên nén Bromhexin hydroclorid, 108
 Viên nén Calci và Vitamin D, 111
 Viên nén Captopril, 125
 Viên nén Carbamazepin, 127
 Viên nén Cefadroxil, 133
 Viên nén Cefixim, 138
 Viên nén Cefuroxim, 148
 Viên nén Cephalexin, 153
 Viên nén Cetirizin, 155
 Viên nén Cimetidin, 161
 Viên nén Cinarizin, 163
 Viên nén Ciprofloxacin, 167
 Viên nén Clarithromycin, 171

- Viên nén Cloramphenicol, 181
Viên nén Cloroquin phosphat, 187
Viên nén Clorpheniramin, 189
Viên nén Clorpromazin hydroclorid, 192
Viên nén Cotrimoxazol, 627
Viên nén Cyproheptadin hydroclorid, 206
Viên nén Dexamethason, 209
Viên nén Dexchlorpheniramin, 216
Viên nén Dexpanthenol, 218
Viên nén Dextromethorphan hydrobromid, 220
Viên nén Diazepam, 221
Viên nén Diclofenac, 224
Viên nén Domperidon, 232
Viên nén đặt âm đạo Clotrimazol, 194
Viên nén Enalapril, 245
Viên nén Ephedrin hydroclorid, 248
Viên nén Erythromycin stearat, 258
Viên nén Erythromycin, 253
Viên nén Ethambutol hydroclorid và isoniazid, 262
Viên nén Ethambutol, 261
Viên nén Famotidin, 270
Viên nén Furosemid, 280
Viên nén Gardenal, 476
Viên nén Gliclazid, 289
Viên nén Glucosamin, 292
Viên nén Griseofulvin, 301
Viên nén Haloperidol, 305
Viên nén Hydrochlorothiazid, 309
Viên nén Ibuprofen, 324
Viên nén Indomethacin, 327
Viên nén Isoniazid, 329
Viên nén Kali clorid, 332
Viên nén Ketoconazol, 341
Viên nén Lamivudin, 348
Viên nén Levomepromazin, 351
Viên nén Levonorgestrel, 353
Viên nén Levothyrosin, 356
Viên nén Loperamid, 364
Viên nén Magnesi - B₆, 375
Viên nén Magnesi - Nhôm hydroxyd, 376
Viên nén Maloxa, 376
Viên nén Mebendazol, 380
Viên nén Mefloquin, 383
Viên nén Meloxicam, 385
Viên nén Metformin, 391
Viên nén Methionin, 393
Viên nén Methyldopa, 397
Viên nén Methylprednisolon, 399
Viên nén Metronidazol, 406
Viên nén Metronidazol và Nystatin, 407
Viên nén Natri thiosulfat, 427
Viên nén Niclosamid, 432
Viên nén Nicotinamid, 434
Viên nén Nifedipin, 436
Viên nén Norfloxacin, 440
Viên nén Nystatin, 446
Viên nén Ofloxacin, 449
Viên nén Papaverin hydroclorid, 461
Viên nén Paracetamol, 466
Viên nén Paracetamol và cafein, 468
Viên nén Paracetamol và clorpheniramin, 469
Viên nén Paracetamol và codein phosphat, 470
Viên nén Penicilin V, 479
Viên nén Penicilin V kali, 481
Viên nén Phenobarbital, 476
Viên nén Phenytoin, 484
Viên nén Phthalylsulfathiazol, 486
Viên nén Phytomenadion, 489
Viên nén Piroxicam, 498
Viên nén Praziquantel, 507
Viên nén Prednisolon, 509
Viên nén Primaquin diphosphat, 513
Viên nén Promethazin hydroclorid, 520
Viên nén Propranolol, 522
Viên nén Propylthiouracil, 525
Viên nén Pyrantel pamoat, 527
Viên nén Pyrazinamid, 528
Viên nén Pyridoxin hydroclorid, 531
Viên nén Quinin sulfat, 538
Viên nén Ranitidin, 540
Viên nén Riboflavin, 544
Viên nén Rifampicin, 550
Viên nén Rotundin, 552
Viên nén Roxithromycin, 554
Viên nén Rutin, 557
Viên nén Rutin và acid ascorbic, 557
Viên nén Salbutamol, 559
Viên nén Sắt (II) sulfat, 566
Viên nén Sắt fumarat và acid folic, 562
Viên nén Spiramycin, 574
Viên nén Sulfadoxin và pyrimethamin, 583
Viên nén Sulfaguanidin, 585
Viên nén Sulfamethoxazol, 587
Viên nén Tenoxicam, 594
Viên nén Tetracyclin hydroclorid, 602
Viên nén Theophylin, 606
Viên nén Thiamin, 610
Viên nén Tinidazol, 615
Viên nén Tolbutamid, 623
Viên nén Trihexyphenidyl, 625
Viên nén Trimeprazin, 34
Viên nén Vitamin B₁, 610
Viên nén Vitamin B₁, B₆, và B₁₂, 610
Viên nén Vitamin B₂, 544
Viên nén Vitamin B₆, 531
Viên nén Vitamin C, 14
Viên sủi Paracetamol, 467
Vinblastin sulfat, 631
Vincristin sulfat, 633
2- Vinylpyridin (TT), PL-79
Vitamini A, 542

Vitamin B₆, 529
 Vitamin C, 12
 Vitamin D₃, 201
 Vitamin K₁, 487
 Vitamin P, 555
 Vỏ hà, 828
 Vỏ hầu, 828
 Vỏ rễ dâu, 737
 Vòng nem (Lá), 931

X

Xa tiền tử, 818
 Xà sàng (Quả), 932
 Xạ can, 870
 Xác định acid acetic trong peptid tổng hợp, PL-218
 Xác định an toàn chung của vắc xin và sinh phẩm, PL-325
 Xác định các chất chiết được trong dược liệu, PL-239
 Xác định các chất oxy hóa, PL-162
 Xác định carbon hữu cơ toàn phần trong nước dùng cho ngành dược, PL-162
 Xác định chất gây sốt trong vắc xin và sinh phẩm, PL-326
 Xác định chất không bị xạ phòng hoá, PL-160
 Xác định chỉ số acetyl, PL-157
 Xác định chỉ số acid, PL-157
 Xác định chỉ số ester, PL-157
 Xác định chỉ số hydroxyl, PL-157
 Xác định chỉ số iod, PL-158
 Xác định chỉ số khúc xạ, PL-144
 Xác định chỉ số peroxyd, PL-159
 Xác định chỉ số pH, PL-144
 Xác định chỉ số trương nở, PL-246
 Xác định chỉ số xạ phòng hoá, PL-160
 Xác định công hiệu của giải độc tố uốn ván hoặc thành phần uốn ván trong vắc xin DTWP hấp phụ, PL-335
 Xác định công hiệu của vắc xin bại liệt uống, PL-334
 Xác định công hiệu giải độc tố bạch hầu hoặc thành phần bạch hầu trong vắc xin phối hợp, hấp phụ, PL-336
 Xác định công hiệu thành phần ho gà toàn tế bào trong vắc xin phối hợp, hấp phụ, PL-339
 Xác định dung môi tồn dư, PL-205
 Xác định đậm độ vi khuẩn ho gà, PL-321
 Xác định điện dẫn xuất, PL-154
 Xác định độ ẩm tồn dư trong vắc xin đông khô, PL-349
 Xác định độ chân không của vắc xin BCG, PL-319
 Xác định độ nhớt của chất lỏng, PL-145
 Xác định độ phân tán của vắc xin BCG, PL-320
 Xác định độ sống của vắc xin BCG, PL-318
 Xác định độ thẩm thấu, PL-153
 Xác định độ tinh khiết kháng nguyên HbsAg, PL-352
 Xác định độ trong của dung dịch, PL-172

Xác định độc tố thần kinh tồn dư trong vắc xin bại liệt uống, PL-333
 Xác định ethylen oxid và dioxan tồn dư, PL-216
 Xác định giới hạn Amoni, PL-174
 Xác định giới hạn Arsen, PL-174
 Xác định giới hạn các tạp chất, PL-174
 Xác định giới hạn Calci, PL-175
 Xác định giới hạn carbon monoxyd trong khí y tế, PL-181
 Xác định giới hạn Chì trong đường, PL-175
 Xác định giới hạn Clorid, PL-175
 Xác định giới hạn Fluorid, PL-175
 Xác định giới hạn Kali, PL-176
 Xác định giới hạn kim loại nặng, PL-176
 Xác định giới hạn kim loại nặng trong dược liệu và trong dầu béo, PL-179
 Xác định giới hạn Magnesi, PL-181
 Xác định giới hạn Magnesi và kim loại kiềm thổ, PL-181
 Xác định giới hạn Nhôm, PL-179
 Xác định giới hạn Nickel trong polyol, PL-179
 Xác định giới hạn Phosphat, PL-180
 Xác định giới hạn Sắt, PL-180
 Xác định giới hạn Sulfat, PL-181
 Xác định giới hạn tiểu phân, PL-228
 Xác định góc quay cực và góc quay cực riêng, PL-147
 Xác định hàm lượng ceri clorid trong vắc xin và sinh phẩm, PL-352
 Xác định hàm lượng ethanol, PL-202
 Xác định hàm lượng formaldehyd tồn dư trong vắc xin và sinh phẩm, PL-341
 Xác định hàm lượng lipid trong vắc xin và sinh phẩm, PL-352
 Xác định hàm lượng methanol và propan-2-ol, PL-204
 Xác định hàm lượng natri clorid với sự có mặt của protein, PL-342
 Xác định hàm lượng nhôm (Al⁺⁺⁺) trong vắc xin và sinh phẩm, PL-342
 Xác định hàm lượng nước bằng phương pháp cất với dung môi, PL-240
 Xác định hàm lượng phenol trong vắc xin và sinh phẩm, PL-343
 Xác định hàm lượng polysacarid trong vắc xin và sinh phẩm, PL-351
 Xác định hàm lượng protein toàn phần trong vắc xin và sinh phẩm, PL-348
 Xác định hàm lượng thimerosal trong vắc xin và sinh phẩm, PL-344
 Xác định hàm lượng Tween 20 trong vắc xin và sinh phẩm, PL-322
 Xác định hàm lượng Vi polysacarid của vắc xin thương hàn Vi polysacarid, PL-350
 Xác định hiệu giá của huyết thanh kháng đại, PL-331
 Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố bạch hầu, PL-328

Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố uốn ván, PL-330

Xác định hiệu lực vắc xin dại theo phương pháp Habel, PL-345

Xác định hiệu lực vắc xin dại theo phương pháp NIH, PL-346

Xác định hiệu quả kháng khuẩn của chất bảo quản, PL-269

Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật, PL-271

Xác định khối lượng riêng của chất rắn, PL-155

Xác định khối lượng riêng và tỷ trọng, PL-148

Xác định lưu huỳnh dioxyd, PL-161

Xác định màu sắc của dung dịch, PL-172

Xác định mất khối lượng do làm khô, PL-182

Xác định nhiệt độ đông đặc, PL-149

Xác định nhiệt độ nóng chảy, khoảng nóng chảy và điểm nhỏ giọt, PL-149

Xác định nhiệt độ sôi và khoảng chưng cất, PL-152

Xác định nitrogen toàn phần của vắc xin và sinh phẩm bằng thuốc thử Nessler, PL-332

Xác định nitrogen trong vắc xin và sinh phẩm, PL-346

Xác định pH của các vắc xin và sinh phẩm, PL-347

Xác định tạp chất lẫn trong dược liệu, PL-239

Xác định tính an toàn của vắc xin DTWP hấp phụ, PL-320

Xác định tính vô khuẩn cho vắc xin và sinh phẩm, PL-322

Xác định tro không tan trong acid, PL-182

Xác định tro sulfat, PL-183

Xác định tro tan trong nước, PL-183

Xác định tro toàn phần, PL-183

Xác định tỷ lệ vụn nát của dược liệu, PL-240

Xác ve sâu, 906

Xanh bromophenol (TT), PL-85

Xanh bromothymol (TT), PL-85

Xanh methylen (TT), PL-80

Xanh tetrazolium (TT), PL-80

Xanh thymol (TT), PL-85

Xanthen-9-ol (TT), PL-79

Xanthidrol (TT), PL-79

Xích thước (Rễ), 933

Xoan rừng, 848

Xuyên bối mẫu, 701

Xuyên khung (Thân rễ), 934

Xuyên sơn giáp, 935

Xuyên tiêu (Quả), 936

Xương bồ, 936

Xylen (TT), PL-80

2,6-Xylidin (TT), PL-50

Xylometazolin hydroclorid, 635

Z

Zidovudin, 637

Zirconyl nitrat (TT), PL-80

Y

Ý dĩ (Hạt), 938

MỤC LỤC TRA CỨU

Theo tên Latin

A

Acetazolamidum, 3
 Acetylcysteinum, 4
 Aciclovirum, 7
 Acidum acetylsalicylicum, 10
 Acidum ascorbicum, 12
 Acidum benzoicum, 15
 Acidum boricum, 16
 Acidum citricum monohydricum, 17
 Acidum folicum, 18
 Acidum hydrochloricum, 21
 Acidum hydrochloricum dilutum, 21
 Acidum nalidixicum, 24
 Acidum nicotinicum, 26
 Acidum salicylicum, 27
 Adrenalinum Epinephrin, 28
 Aerosolum, PL-24
 Aether anaestheticus, 266
 Aether medicinalis, 266
 Albendazolum, 31
 Alcohol cetylicus, 157
 Alcohol cetylicus et stearylicus, 156
 Alcohol stearylicus, 575
 Alcoholaturae, PL-32
 Alimemazini tartras, 33
 Aloe, 814
 Aluminii phosphas siccum, 430
 Aluminii hydroxydum siccum, 429
 Alverini citratum, 37
 Amikacinum, 39
 Aminophyllinum, 42
 Amlodipini besilas, 46
 Amonii chloridum, 47
 Amoxicillini pro injectione, 52
 Amoxicillinum trihydricum, 48
 Amphotericincum B, 53
 Ampicillini pro injectione, 57
 Ampicillinum, 54
 Ampicillinum natricum, 55
 Ampicillinum trihydratum, 58
 Amylum, 613
 Aqua destillata, 441
 Aqua pro injectione, 441
 Aqua purificata, 443
 Aqua sterilis pro injectione, 444
 Argenti nitras, 83
 Argentum vitellanicum, 83
 Arillus Longan, 813
 Arillus Momordicae cochinchinensis, 770
 Artemetherum, 60
 Artemisininum, 63
 Artesunati pro injectione, 67
 Artesunatum, 65

Aspartamum, 69
 Atenololum, 71
 Atropini sulfas, 73
 Azithromycinum, 76

B

Bacitracinum, 78
 Bari sulfas, 81
 Bari sulfas pro suspensio, 82
 Benzalkonii chloridum, 84
 Benzathini benzylpenicillinum pro injectione, 87
 Benzathinum benzylpenicillinum, 85
 Benzylpenicillini pro injectione, 90
 Benzylpenicillinum kalicum, 87
 Benzylpenicillinum natricum, 89
 Berberini chloridum, 91
 Betamethasoni dipropionas, 96
 Betamethasoni valeras, 98
 Betamethasonium, 93
 Benzoinum, 708
 Biotinum, 100
 Bisacodylum, 101
 Bombyx Botryticatus, 889
 Bromhexini hydrochloridum, 107
 Bulbus Allii sativi, 918
 Bulbus Eleutherinis subaphyllae, 879
 Bulbus Fritillariae, 701
 Bulbus Lillii, 687

C

Cacumen Platycladi, 921
 Caffeinum, 109
 Calci sulfat ustus, 104
 Calcii carbonas, 110
 Calcii chloridum dihydricum, 112
 Calcii gluconas, 113
 Calcii gluconas ad injectabile, 114
 Calcii glycerophosphas, 116
 Calcii hydroxydum, 117
 Calcii lactas pentahydricus, 118
 Calcii lactas trihydricus, 119
 Calcii pantothenas, 120
 Calcii phosphas, 121
 Calyx Kaki, 899
 Camphora, 122
 Capsulae, PL-20
 Capsulae Acetylcysteini, 6
 Capsulae Alverini, 38
 Capsulae Amoxicillini, 49
 Capsulae Ampicillini, 59
 Capsulae Artemetheri, 62

- Capsulae Artemisinini, 64
 Capsulae Azithromycini, 77
 Capsulae Cefaclori, 129
 Capsulae Cefadroxili, 131
 Capsulae Cefradini, 143
 Capsulae Cephalaxini, 152
 Capsulae Chloramphenicoli, 179
 Capsulae Clarithromycini, 170
 Capsulae Cloxacillini, 196
 Capsulae Doxycyclini, 235
 Capsulae Erythromycini stearatis, 257
 Capsulae Fluconazoli, 275
 Capsulae Indomethacini, 326
 Capsulae Ketoprofeni, 344
 Capsulae Lincomycini, 360
 Capsulae Loperamidi, 363
 Capsulae Ofloxacini, 448
 Capsulae Omeprazoli, 451
 Capsulae Paracetamoli, 464
 Capsulae Piracetami, 495
 Capsulae Piroxicami, 497
 Capsulae Rifampicini, 547
 Capsulae Rifampicini et Isoniazidi, 548
 Capsulae Tetracyclini hydrocloridi, 600
 Captoprilum, 124
 Carapax et Plastrum Testudinis, 866
 Carapax Trionycis, 828
 Carbamazepinum, 125
 Carbo activatus, 603
 Caulis Coccinii fenestrati, 929
 Caulis cum folium Lonicerae, 805
 Caulis et Radix Fibraureae, 780
 Caulis Perillae frutescens, 910
 Caulis Spatholobi suberecti, 798
 Caulis Tinosporae sinensis, 738
 Cefaclorum, 127
 Cefadroxilum monohydricum, 130
 Cefazolini pro injectione, 135
 Cefazolinum natricum, 133
 Cefiximum, 136
 Cefotaximi pro injectione, 140
 Cefotaximum natricum, 139
 Cefradinum, 141
 Ceftriaxonum pro injectione, 146
 Ceftriaxonum natricum, 144
 Cefuroximum axetili, 147
 Cefuroximum natricum, 149
 Cephalaxinum, 151
 Cera alba, 876
 Cera flava, 876
 Cetirizini hydrochloridum, 154
 Chlofaziminum, 176
 Chloramphenicoli natrii succinas, 182
 Chloramphenicoli palmitas, 181
 Chloramphenicoli pro injectione, 184
 Chloramphenicolum, 178
 Chlorhexidini digluconatis solutio, 237
 Chloroformium, 185
 Chlorpheniramin maleas, 188
 Chlorpromazini hydrochloridum, 190
 Cholecalciferolum, 201
 Chymotrypsinum, 157
 Cimetidinum, 160
 Cineolum, 164
 Cinnarizinum, 162
 Ciprofloxacini hydrochloridum, 165
 Clarithromycinum, 168
 Clindamycini hydrochloridum, 174
 Clorali hydras, 177
 Cloroquini phosphas, 186
 Clotrimazolum, 193
 Cloxacillinum natricum, 195
 Cocaini hydrochloridum, 197
 Codeini phosphas, 199
 Codeinum monohydricum, 198
 Collyria, PL-21
 Collyrium Chloramphenicoli, 180
 Collyrium Ciprofloxacini, 167
 Collyrium Gentamicini, 284
 Collyrium Hydrocortisoni et Neomycini, 313
 Collyrium Natrii chloridi, 419
 Collyrium Neomycini, 428
 Collyrium Ofloxacini, 449
 Collyrium Zinci sulfatis, 338
 Concha Ostreae, 828
 Concretio Silicae Bambusae, 902
 Cornu Cervi Pantotrichum, 815
 Cortex Acanthopanax trifoliati, 844
 Cortex Cinnamomi, 865
 Cortex Eucommiae, 765
 Cortex Holarrhenae, 832
 Cortex Lycii, 759
 Cortex Magnoliae officinalis, 775
 Cortex Mori albae radices, 737
 Cortex Oroxyli, 856
 Cortex Paeoniae suffruticosae, 827
 Cortex Periplocae, 790
 Cortex Phellodendri, 778
 Cortex Schefflerae heptaphyllae, 843
 Cortex Strychni wallichianae, 784
 Cortex Terminaliae nigrovenulosae, 719
 Cortisoni acetat, 202
 Cremoris clotrimazoli, 194
 Cremoris Fluocinoloni, 277
 Cremoris Ketoconazoli, 340
 Cremoris Ketoconazoli et Neomycini, 342
 Cupri sulfas, 240
 Cupri sulfas anhydricus, 241

Cyanocobalaminum, 203
Cyproheptadini hydrocloridum, 205

D

Dapsonum, 207
Dexamethasoni acetat, 210
Dexamethasoni natrii phosphat, 212
Dexamethasonum, 208
Dexchlorpheniramin maleat, 214
Dexpanthenolum, 217
Dextromethorphan hydrobromidum, 219
Diazepamum, 220
Diclofenacum natricum, 222
Dicloxacillinum natricum, 225
Diethylis phthalat, 227
Dilutum ethanolum, 264
Dimercaprolum, 228
Diphenhydraminum hydrocloridum, 229
Domperidoni maleat, 231
Doxycyclini hydrocloridum, 233

E

Effervescentis tabellae Paracetamoli, 467
Embryo Nelumbinis nuciferae, 883
Emulsiones, PL-12
Enalapril maleat, 244
Endothelium Corneum Gigeriae Galli, 799
Ephedrin hydrocloridum, 247
Ergocalciferolum, 249
Erythromycin ethyl succinat, 254
Erythromycin stearat, 256
Erythromycinum, 251
Erythrosinum, 259
Ethambutol hydrocloridum, 260
Ethanolum, 264
Ethanolum 96 %, 264
Ethinylestradiolum, 267
Eugenolum, 268
Extracta, PL-9
Extractum Cynarae spissum, 682

F

Famotidinum, 269
Fenofibrat, 272
Ferrici oxydum, 563
Ferrosi fumarat, 560
Ferrosi sulfat, 565
Ferrosi sulfat siccum, 567
Flucloxacillinum natricum, 273

Fluconazolum, 274
Fluocinolonum acetonidum, 276
Fluocinolonum acetonidum dihydricum, 279
Flos Carthami tinctorii, 788
Flos Chrysanthemi indic, 731
Flos Daturae metel, 701
Flos Eriocauli, 725
Flos Lonicerae, 806
Flos Plumeriae rubrae, 746
Flos Styphnolobii japonici imaturi, 786
Flos Syzygii aromatici, 763
Flos Tussilaginis farfarae, 800
Folium Ampelopsis, 714
Folium Artemisiae annuae, 895
Folium Calotropis, 808
Folium Catharanthi rosei, 743
Folium Cynarae scolym, 681
Folium Daturae metel, 703
Folium Eriobotryae, 926
Folium Erythrinae variegatae, 931
Folium et Ramulus Crotonis tonkinensis, 802
Folium Excoecariae, 767
Folium Jasmini subtripinervis, 716
Folium Mori albae, 736
Folium Nelumbinis nuciferae, 882
Folium Perillae frutescens, 909
Folium Plantaginis, 819
Folium Plectranthi amboinici, 788
Folium Plucheae pteropodae, 816
Folium Sambuci javanicae, 728
Folium Senna alatae, 835
Folium Steviae rebaudiana, 720
Formaldehydi solutio, 238
Fructus Alpiniae oxyphyllae, 796
Fructus Amomi, 872
Fructus Amomi aromatici, 898
Fructus Amomi cardamomi, 689
Fructus Arctii lappae, 846
Fructus Armeniacae praeparatus, 830
Fructus Aurantii, 718
Fructus Aurantii immaturus, 716
Fructus Bruceae javanicae, 848
Fructus Chaenomeles, 831
Fructus Cnidii, 932
Fructus Corni officinalis, 884
Fructus Evodiae rutaecarpae, 841
Fructus Foeniculi, 912
Fructus Forsythiae suspensae, 811
Fructus Gardeniae, 733
Fructus Hordei germinatus, 821
Fructus Illicii veri, 748
Fructus Lycii, 713
Fructus Mali, 885
Fructus Mori albae, 737

Fructus Morindae citrifoliae, 848
Fructus Perillae frutescens, 910
Fructus Piperis longi, 892
Fructus Piperis nigri, 776
Fructus Psoraleae corylifoliae, 700
Fructus Rosae laevigatae, 804
Fructus Rubi, 825
Fructus Schisandrae, 845
Fructus Terminaliae chebulae, 799
Fructus Tribuli terrestris, 692
Fructus Trichosanthis, 864
Fructus Viticis trifoliae, 823
Fructus Xanthii strumarii, 797
Fructus Zanthoxyli, 936
Fructus Ziziphi jujubae, 750
Furosemidum, 279

G

Galla chinensis, 842
Gekko, 889
Gelatinum, 281
Gentamicini sulfas, 282
Glibenclamidum, 286
Gliclazidum, 288
Glucosamini hydrochloridum, 289
Glucosamini sulfas kalii chloridum, 291
Glucosamini sulfas natrii chloridum, 292
Glucosum anhydricum, 293
Glucosum monohydricum, 295
Glycerinum, 296
Glyceroli monostearas 40 - 55, 298
Granulae, PL-14
Griseofulvinum, 299
Gummi resina Olibanum, 854
Gypsum fibrosum, 893

H

Haloperidolum, 303
Halothanum, 306
Herba Abutili indic, 726
Herba Adenosmatis bracteosi, 853
Herba Adenosmatis caerulei, 852
Herba Adenosmatis indiani, 697
Herba Artemisiae apiaceae, 896
Herba Artemisiae vulgaris, 837
Herba Asari, 893
Herba Centellae asiaticae, 867
Herba Centipediae minimae, 724
Herba Cistanches, 855
Herba Clerodendri philippini, 829
Herba Dendrobii, 894

Herba Desmodii styracifolii, 806
Herba Ecliptae, 721
Herba Elsholtziae ciliatae, 808
Herba Ephedrae, 817
Herba Epimedii, 734
Herba Equiseti debilis, 833
Herba et Radix Scopariae, 706
Herba Hedyotidis capitellatae, 732
Herba Hedyotis diffusae, 691
Herba Houttuyniae cordatae, 740
Herba Lactucaae indicae, 699
Herba Leonuri japonici, 795
Herba Lophatheri, 750
Herba Loranthi, 890
Herba Loranthi Gracifilolii, 887
Herba Menthae, 684
Herba Ocimi, 791
Herba Orthosiphonis spiralis, 869
Herba Passiflorae foetidae, 810
Herba Phyllanthi amari, 742
Herba Phyllanthi urinariae, 741
Herba Piperis lolot, 809
Herba Pistiae, 749
Herba Pogostemonis, 777
Herba Portulacae, 868
Herba Siegesbeckiae, 794
Herba Wedeliae, 874
Hippocampus, 704
Hydrochlorothiazidum, 307
Hydrocortisoni acetat, 310
Hydroxocobalamini acetat, 314
Hydroxocobalamini chloridum, 315
Hydroxocobalamini sulfas, 316
Hydroxyethylcellulosum, 318
Hydroxyethylmethylcellulosum, 320
Hyoscini butylbromidum, 322
Hydroxypropylcellulosum, 321

I

Ibuprofenum, 323
Immunoglobulinum humanum normale, 643
Immunosera ad usum humanum, 645
Immunoserum contra venena, 647
Immunoserum diphthericum, 646
Immunoserum tetanicum ad usum humanum, 648
Indomethacinum, 325
Infusio Metronidazoli, 406
Infusio Natrii chloridi isotonica, 419
Infusio Ringer-Lactate, 229
Infusiones, PL-27
Inhalationis, PL-23
Injectio Adrenalini, 30
Injectio Aminophyllini, 43

Injectio Atropini sulfatis, 74
 Injectio Calcii chloridi 10 %, 113
 Injectio Calcii gluconatis, 116
 Injectio Chlorpromazini hydrochloridi, 191
 Injectio Coffeini et Natrii benzoas, 110
 Injectio Cyanocobalamini, 204
 Injectio Dexamethasoni, 213
 Injectio Diclofenaci natrii, 223
 Injectio Ephedrini hydrochloridi, 248
 Injectio Gentamicini, 285
 Injectio Glucosi, 295
 Injectio Hydrocortisoni acetat, 311
 Injectio Hydroxocobalamini, 317
 Injectio Kalii chloridi, 332
 Injectio Lidocaini, 358
 Injectio Lincomycini, 361
 Injectio Methylprednisoloni acetat, 402
 Injectio Morphini hydrochloridi, 411
 Injectio Natrii bicarbonas, 421
 Injectio Natrii chloridi, 419
 Injectio Procaini hydrochloridi, 515
 Injectio Progesteroni, 518
 Injectio Pyridoxini hydrochloridi, 530
 Injectio Quinini dihydrochloridi, 535
 Injectio Sparteini sulfatis, 570
 Injectio Thiamini hydrochloridi, 608
 Injectiones, PL-27
 Inteferoni alfa 2, 648
 Iodum, 328
 Isoniazidum, 328

K

Kalii bromidum, 330
 Kalii chloridum, 331
 Kalii clavulanas, 172
 Kalii iodidum, 333
 Kalii permanganas, 333
 Kaolinum leve, 335
 Kaolinum leve naturale, 336
 Kaolinum ponderosum, 334
 Ketoconazolum, 339

L

Lactosum, 345
 Lamivudinum, 346
 Lanolinum anhydricum, 349
 Lanugo gossypii absorbens, 103
 Lanugo gossypii absorbens sterilis, 104
 Levomepromazini maleas, 350
 Levonorgestrelum, 353
 Levothyroxinum natricum, 355

Lidocaini hydrochloridum, 357
 Lignum Dracaenae cambodiana, 790
 Lignum Sappan, 919
 Lidocaini hydrochloridum, 357
 Lincomycini hydrochloridum, 359
 Loperamidi hydrochloridum, 362

M

Magnesii chloridum, 368
 Magnesii hydroxydum, 369
 Magnesii oxydum leve, 371
 Magnesii oxydum ponderosum, 370
 Magnesii stearas, 372
 Magnesii subcarbonas levis, 368
 Magnesii subcarbonas ponderosus, 367
 Magnesii sulfas, 373
 Magnesii trisilicas, 374
 Mangiferinum, 377
 Mannitolum, 378
 Mebendazolum, 380
 Medulla Junci effusi, 755
 Medulla Tetrapanacis papyriferi, 905
 Mefloquini hydrochloridum, 382
 Mel, 825
 Meloxicamum, 384
 Mentholum, 387
 Meprobamatum, 388
 Mercuresceinum natricum, 389
 Metformini hydrochloridum, 390
 DL-Methioninum, 392
 Methyldopum, 395
 Methylis parahydroxybenzoas, 394
 Methylis salicylas, 395
 Methylprednisoloni acetat, 401
 Methylprednisolonum, 397
 Metoclopramidum, 403
 Metronidazolum, 405
 Miconazolum, 408
 Molles capsulae, 542
 Molles capsulae Progesteroni, 517
 Molles capsulae Vitamini E, 621
 Morphini hydrochloridum, 410
 Musci medicati, PL-31
 Myrrha, 834

N

Naphazolini nitrat, 412
 Nasalia Oxymetazolini, 458
 Nasalia Xylometazolini, 637

Natrii benzoas, 413
 Natrii bromidum, 414
 Natrii calcii edetas, 415
 Natrii camphosulfonas, 416
 Natrii chloridum, 417
 Natrii citras, 416
 Natrii hydrocarbonas, 420
 Natrii salicylas, 421
 Natrii sulfas, 423
 Natrii thiopentalum et natrii carbonas, 425
 Natrii thiosulfas, 426
 Neomycini sulfas, 427
 Niclosamidi monohydratum, 431
 Nicotinamidum, 433
 Nifedipinum, 435
 Nikethamidum, 437
 Nitrofurantoinum, 438
 Norfloxacinum, 439
 Nystatinum, 445

O

Ofloxacinum, 447
 Oleum Anisi stellati, 914
 Oleum Cajuputi, 917
 Oleum Calophylli inophylli, 738
 Oleum Cinnamomi, 916
 Oleum Cinnamomi camphorae, 916
 Oleum Eucalypti, 914
 Oleum Menthae arvensis, 913
 Oleum Ocimi gratissimi, 915
 Omeprazolum, 450
 Os Sepiae, 822
 Oxygenium, 455
 Oxytetracyclinum dihydratum, 458

P

Paracetamolum, 462
 Pepsinum, 471
 Pericarpium Arecae catechi, 711
 Pericarpium Citri reticulatae perenne, 922
 Pericarpium Garcinia mangostanae, 824
 Periostracum Cicadae, 906
 Pethidini hydrocloridum, 473
 Phenobarbitalum, 475
 Phenolum, 477
 Phenoxymethylpenicillinum, 477
 Phenoxymethylpenicillinum kalicum, 480
 Phenylpropanolamini hydrocloridum, 482
 Phenytoinum, 483
 Pheretima, 762
 Phthalylsulfathiazolum, 485

Phytomenadionum, 487
 Pilocarpini nitras, 490
 Pilula, PL-17
 Piperazini adipas, 491
 Piperazini citras, 492
 Piperazini hydras, 493
 Pilocarpini nitras, 490
 Piperazini phosphas, 494
 Piracetamum, 494
 Piroxicamum, 496
 Poria, 862
 Povidonum, 502
 Povidonum iodinatum, 505
 Praeparationes molles ad usum dermicum, PL-18
 Praziquantelum, 506
 Primaquini diphosphas, 512
 Procaini hydrocloridum, 514
 Progesteronum, 517
 Propranololi hydrocloridum, 521
 Propylis parahydroxybenzoas, 523
 Pulveres, PL-13
 Pulveres Acetylcystein, 7
 Pulveres Azithromycini, 78
 Pulveres Cefadroxili, 132
 Pulveres Cephalexini, 153
 Pulveres Natrii hydrocarbonas, 421
 Pulveres Roxithromycini, 554
 Pulveres Sorbitoli, 569
 Pulveris Aspartami, 70
 Pyrazinamidum, 527
 Pyridoxini hydrocloridum, 529
 Pyrimethaminum, 531

Q

Quinini bisulfas, 532
 Quinini hydrocloridum, 536
 Quinini sulfas, 537

R

Radix Abelmoschi sagittifolii, 877
 Radix Achyranthis asperae, 723
 Radix Achyranthis bidentatae, 847
 Radix Aconiti, 857
 Radix Aconiti lateralis, 860
 Radix Angelicae acutilobae, 768
 Radix Angelicae dahuricae, 688
 Radix Angelicae pubescentis, 766
 Radix Angelicae sinensis, 767
 Radix Asparagi cochinchinensis, 900
 Radix Astragali membranacei, 782
 Radix Boehmeriae niveae, 769

Radix Bupleuri, 875
 Radix Catharanthi rosei, 744
 Radix Codonopsis javanicae, 753
 Radix Codonopsis javanicae preparata, 754
 Radix Codonopsis pilosulae, 752
 Radix Dipsaci, 924
 Radix et Rhizoma Asteris tatarici, 926
 Radix et Rhizoma Clematidis, 928
 Radix et Rhizoma Gentianae, 812
 Radix Fallopieae multiflorae, 772
 Radix Gentianae, 891
 Radix Ginseng, 850
 Radix Glehniae, 873
 Radix Glycyrrhizae, 705
 Radix Linderae, 858
 Radix Millettiae speciosae, 710
 Radix Morindae citrifoliae, 850
 Radix Morindae officinalis, 682
 Radix Nymphaeae stellatae, 731
 Radix Ophiopogonis japonici, 821
 Radix Paeoniae, 933
 Radix Paeoniae lactiflorae, 692
 Radix Panasis notoginseng, 886
 Radix Peucedani, 911
 Radix Phytolaccae, 907
 Radix Platycodi grandiflori, 709
 Radix Plucheae pteropodae, 816
 Radix Polygalae, 930
 Radix Polygoni cuspidati, 726
 Radix Polysciacis, 764
 Radix Puerariae thomsonii, 880
 Radix Rhemanniae glutinosae, 760
 Radix Rhemanniae glutinosae praeparata, 906
 Radix Salviae miltiorrhizae, 751
 Radix Sanguisorbae, 759
 Radix Saposhnikoviae divaricatae, 859
 Radix Saussureae lappae, 830
 Radix Scrophulariae, 789
 Radix Scutellariae, 779
 Radix Stemonae tuberosae, 685
 Radix Stephaniae tetrandrae, 859
 Radix Streptocauli, 773
 Ramulus Cinnamomi, 864
 Ramulus Cum folio Melaleuca, 920
 Ramulus Cum Unco Uncariae, 712
 Ramulus Mori albae, 735
 Retinoli Densatum oleosum, 541
 Retinoli Pulvis, 541
 Rhizoma Acori, 936
 Rhizoma Alismatis, 920
 Rhizoma Alpiniae officinari, 871
 Rhizoma Anemarrhenae, 923
 Rhizoma Atractylodis, 908
 Rhizoma Atractylodis macrocephalae, 693
 Rhizoma Belamcandae chinensis, 870
 Rhizoma Bletillae striatae, 688
 Rhizoma Cibotii, 714

Rhizoma Cimicifugae, 897
 Rhizoma Coptidis, 783
 Rhizoma Curculiginis, 878
 Rhizoma Curcumae longae, 838
 Rhizoma Curcumae zedoariae, 836
 Rhizoma Cyperi, 792
 Rhizoma Dioscoreae, 927
 Rhizoma Drynariae, 727
 Rhizoma et Radix Notopterygii, 804
 Rhizoma et Radix Panacis vietnamensis, 879
 Rhizoma Gastrodiae elatae, 900
 Rhizoma Homalomenae occultae, 901
 Rhizoma Imperatae cylindrica, 722
 Rhizoma Kaempferiae galangae, 761
 Rhizoma Ligustici wallichii, 934
 Rhizoma Pinelliae, 694
 Rhizoma Polygonati, 785
 Rhizoma Polygonati odorati, 840
 Rhizoma Rhei, 747
 Rhizoma Smilacis glabrae, 904
 Rhizoma Thalictri foliolosi, 903
 Rhizoma Typhonii trilobati, 729
 Rhizoma Zingiberis, 771
 Riboflavini Natrii phosphas, 544
 Rifampicinum, 546
 Roxithromycinum, 552

S

Saccharum, 242
 Sales perorales ad rehydratationem, 453
 Sargassum, 872
 Scolopendra, 841
 Scorpio, 918
 Semen Armeniacae amarum, 801
 Semen Coicis, 938
 Semen Cuscutae, 902
 Semen Euryales, 800
 Semen Lablab, 757
 Semen Momordicae cochinchinensis, 770
 Semen Myristicae, 854
 Semen Nelumbinis nuciferae, 881
 Semen Pharbitidis, 695
 Semen Plantaginis, 818
 Semen Platycladi orientalis, 683
 Semen Pruni, 756
 Semen Raphani sativi, 704
 Semen Sennae torae, 898
 Semen Sinapis albae, 690
 Semen Strychni, 819
 Semen Trichosanthis, 863
 Semen Vignae aurei, 758
 Semen Vignae cylindrica, 756
 Semen Ziziphi mauritiana, 888

Serum antirabicum, 646
 Sirupi, PL-11
 Solutio glycerylis trinitras, 239
 Solutio Hydrogenii peroxydi concentrata, 441
 Solutio Hydrogenii peroxydi diluta 10 %, 442
 Solutio Nikethamidi, 438
 Solutio Povidoni Iodini, 505
 Solutiones, PL-11
 Sorbitolum, 567
 Sparteini sulfas, 569
 Spica Prunellae, 774
 Spiramicinum, 572
 Squama Manis, 935
 Streptomycini pro injectione, 577
 Streptomycini sulfas, 575
 Strychnini sulfas, 579
 Sulfacetamidum natricum, 422
 Sulfadiazinum, 580
 Sulfadimidinum, 581
 Sulfadoxinum, 582
 Sulfaguanidinum, 584
 Sulfamethoxazolum, 586
 Sulfametoxy pyridazinum, 588
 Sulfathiazolum, 589
 Suppositoria, PL-17
 Suppositoria Nystatini, 445
 Suppositoria Paracetamoli, 465
 Suspensiones, PL-12

T

Tabellae, PL-29
 Tabellae Acetazolamidi, 4
 Tabellae Acicloviri, 9
 X Tabellae Acidi acetylsalicylici, 11
 Tabellae Acidi ascorbici, 14
 Tabellae Acidi folici, 19
 Tabellae Acidi mefenamici, 23
 Tabellae Acidi nalidixici, 25
 Tabellae Albendazoli, 32
 Tabellae Alimemazini, 34
 Tabellae Allopurinoli, 36
 Tabellae Aluminii hydroxydi - Magnesii hydroxydi, 376
 Tabellae Aminophyllini, 43
 Tabellae Amoxicillini, 50
 Tabellae Amoxicillini et Acidi clavulanici, 51
 Tabellae Artemetheri, 63
 Tabellae Artemisinini, 65
 Tabellae Artesunati, 68
 Tabellae Atenololi, 72
 Tabellae Atropini sulfatis, 75
 Tabellae Berberini chloridi, 93
 Tabellae Betamethasoni, 95
 Tabellae Biotini, 101
 Tabellae Bisacodyli, 102

Tabae Bromhexini hydrochloridi, 108
 Tabae Calcii carbonatis et Vitamini D, 111
 Tabae Captoprili, 125
 Tabae Carbamazepini, 127
 Tabae Cefadroxili, 133
 Tabae Cefiximi, 138
 Tabae Cefuroximi, 148
 Tabae Cephalaxini, 153
 Tabae Cetirizini, 155
 Tabae Chloramphenicoli, 181
 Tabae Chloroquini phosphatis, 187
 Tabae Chlorpheniramin, 189
 Tabae Chlorpromazini hydrochloridi, 192
 Tabae Chymotrypsini, 158
 Tabae Cimetidini, 161
 Tabae Cinnarizini, 163
 Tabae Ciprofloxacin, 167
 Tabae Clarithromycini, 171
 Tabae Cltrimoxazoli, 627
 Tabae Cproheptadini hydrochloridi, 206
 Tabae Dexamethasoni, 209
 Tabae Dchlorpheniramin, 216
 Tabae Dexpantenoli, 218
 Tabae Dextromethorphan hydrobromidi, 220
 Tabae Diazepam, 221
 Tabae Diclofenaci, 224
 Tabae Domperidoni, 232
 Tabae Enalapril, 245
 Tabae Ephedrin hydrochloridi, 248
 Tabae Erythromycini, 253
 Tabae Erythromycini stearatis, 258
 Tabae Ethambutoli, 261
 Tabae Ethambutoli hydrochloridi et Isoniazidi, 262
 Tabae Famotidini, 270
 Tabae Ferrosi fumaratis et Acidi folici, 562
 Tabae Ferrosi sulfatis, 566
 Tabae Furosemidi, 280
 Tabae Glucosamini, 292
 Tabae Griseofulvini, 301
 Tabae Haloperidoli, 305
 Tabae Hydrochlorothiazidi, 309
 Tabae Ibuprofeni, 324
 Tabae Indomethacini, 327
 Tabae Isoniazidi, 329
 Tabae Kalii chloridi, 332
 Tabae Ketoconazoli, 341
 Tabae Lamivudini, 348
 Tabae Levomepromazini, 351
 Tabae Levonorgestrel, 353
 Tabae Levothyroxini, 356
 Tabae Loperamidi, 364
 Tabae Magnesii - Pyridoxini hydrochloridi, 375
 Tabae Mebendazoli, 380
 Tabae Mefloquini hydrochloridi, 383
 Tabae Meloxicami, 385
 Tabae Metformini, 391

Tabellae Methionini, 393
 Tabellae Methyldopi, 397
 Tabellae Methylprednisoloni, 399
 Tabellae Metronidazoli et Nystatini, 407
 Tabellae Natrii thiosulfas, 427
 Tabellae Niclosamidi, 432
 Tabellae Nicotinamidi, 434
 Tabellae Nifedipini, 436
 Tabellae Norfloxacin, 440
 Tabellae Nystatini, 446
 Tabellae Ofloxacin, 449
 Tabellae Papaverini hydrochloridi, 461
 Tabellae Paracetamoli, 466
 Tabellae Paracetamoli et Chlorphenirami, 469
 Tabellae Paracetamoli et Codeini phosphas, 470
 Tabellae Paracetamoli et Coffeini, 468
 Tabellae Phenobarbitali, 476
 Tabellae Phenoxymethylpenicillini, 479
 Tabellae Phenoxymethylpenicillini Kalii, 481
 Tabellae Phenytoini, 484
 Tabellae Phthalylsulfathiazoli, 486
 Tabellae Phytomenadioni, 489
 Tabellae Piroxicami, 498
 Tabellae Praziquanteli, 507
 Tabellae Prednisoloni, 509
 Tabellae Primaquini diphosphas, 513
 Tabellae Promethazini hydrochloridi, 520
 Tabellae Propranololi, 522
 Tabellae Propylthiouracili, 525
 Tabellae Pyranteli pamoati, 527
 Tabellae Pyrazinamidi, 528
 Tabellae Pyridoxini hydrochloridi, 531
 Tabellae Quinini sulfatis, 538
 Tabellae Ranitidini, 540
 Tabellae Riboflavini, 544
 Tabellae Rifampicini, 550
 Tabellae Rotundini, 552
 Tabellae Roxithromycini, 554
 Tabellae Rutini, 557
 Tabellae Rutini et Acidi ascorbici, 557
 Tabellae Salbutamoli, 559
 Tabellae Spiramycini, 574
 Tabellae Sulfadoxini et Pyrimethamini, 583
 Tabellae Sulfaguanidini, 585
 Tabellae Sulfamethoxazoli, 587
 Tabellae Tenoxicami, 594
 x Tabellae Tetracyclini hydrochloridi, 602
 Tabellae Theophyllini, 606
 Tabellae Thiamini, 610
 Tabellae Tinidazoli, 615
 Tabellae Tolbutamidi, 623
 Tabellae Trihexyphenidyl, 625
 Tabellae Vaginalis clotrimazoli, 194
 Tabellae Vitamini B₁, B₆ et B₁₂, 610
 Talcum, 104
 Talcum, 786
 Terfenadinum, 595

Tincturae, PL-10
 Titanii dioxidum, 616
 Tobramycinum, 617
 Tolbutamidum, 622
 Trihexyphenidyl hydrochloridum, 624
 Tuber Corydalis, 739
 Tuber Dioscoreae persimilis, 730
 Tuber Stephaniae, 696
 Tuberculi derivatum proteinosum purificatum, 650

U

Unguentum Acicloviri, 8
 Unguentum Acidi borici 10 %, 17
 Unguentum Benzosalicylici, 15
 Unguentum Hydrocortisoni acetat, 312
 Unguentum Nystatini, 446
 Unguentum Tetracyclini hydrochloridi, 601
 Unguentum Zinci oxydi, 337

V

Vaccina ad usum humanum, 651
 Vaccinum BCG cryodessicatum, 661
 Vaccinum Cholerae per orale, 665
 Vaccinum Diphtheriae adsorbatum, 652
 Vaccinum Diphtheriae et tetani ad usum adulti et adolescentis adsorbatum, 657
 Vaccinum Diphtheriae tetani et Pertussis adsorbatum, 654
 Vaccinum Encephalitis japonicae, 676
 Vaccinum febris Typhoidi perorale vivum, 667
 Vaccinum Hepatitis B (rDNA), 673
 Vaccinum Hepatitis B ex plasma humanum, 675
 Vaccinum Morbillorum vivum, 664
 Vaccinum Poliomyelitis inactivatum, 659
 Vaccinum Poliomyelitis perorale, 660
 Vaccinum Rabiei ex cellulis ad usum humanum, 662
 Vaccinum Tetani adsorbatum, 672
 Vaccinum Vi polysaccharidi Typhoidi, 670
 Vancomycini hydrochloridum, 628
 Vaseline album, 630
 Vinblastini sulfatis pro Injectione, 632
 Vincristini sulfatis pro Injectione, 634

X

Xylomethazolini hydrochloridum, 635

Z

Zidovudinum, 637
 Zinci oxydum, 337

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM

(Lần xuất bản thứ tư)

Chịu trách nhiệm xuất bản

HOÀNG TRỌNG QUANG

Biên tập và sửa bản in

ThS. Lục Thị Thu Hằng

ThS. Nguyễn Thị Hương

ThS. Nguyễn Thị Phương Mai

ThS. Cao Thị Mai Phương

PGS. TS. Trịnh Văn Quỳnh

BS. Đặng Cẩm Thúy

TS. Nguyễn Văn Tựu

Trình bày bìa

HỘI ĐỒNG DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM

Kỹ thuật vi tính

NGUYỄN THỊ ÂN

GIÁ: 585.000Đ

In 300 cuốn, khổ A4 tại Xưởng in Nhà xuất bản Y học.

Số đăng ký kế hoạch xuất bản: 25 - 2009/CXB/109 - 168/YH

In xong và nộp lưu chiểu quý IV năm 2009.

PHỔ HỒNG NGOẠI

CHUẨN BỊ PHỔ HỒNG NGOẠI DÙNG ĐỂ ĐỐI CHIẾU

Tất cả các phổ có trong phụ lục này được ghi trên máy quang phổ hồng ngoại tán sắc Perkin Elmer model 682 hoặc ghi trên máy quang phổ hồng ngoại chuyển hóa Fourier Perkin Elmer model 16 PC.

Đĩa nén có đường kính 13 mm được chuẩn bị với kali bromid hoặc kali clorid.

Bột nhão parafin và phim mỏng được chuẩn bị giữa 2 tấm phẳng kali bromid.

Đối với khí và dung dịch, dùng cốc đo có cửa sổ bằng kali bromid.

Phổ của dung dịch được ghi đối chiếu với dung môi, còn tất cả các phổ khác được ghi đối chiếu với không khí.

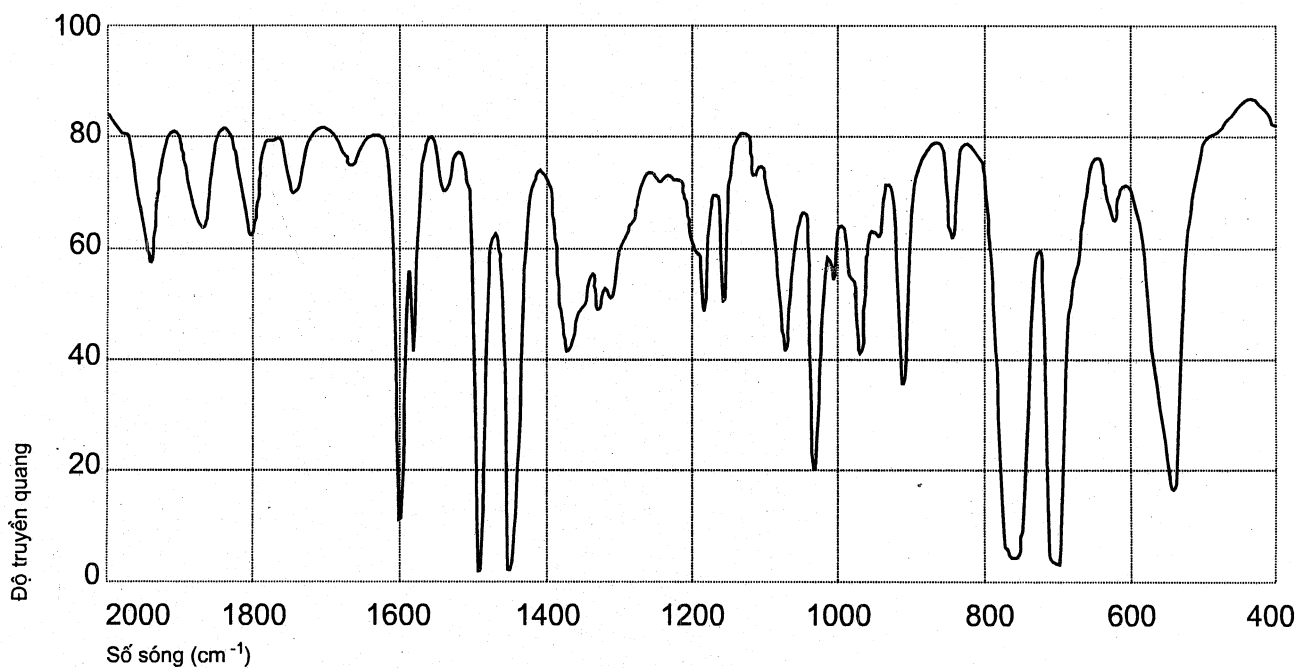
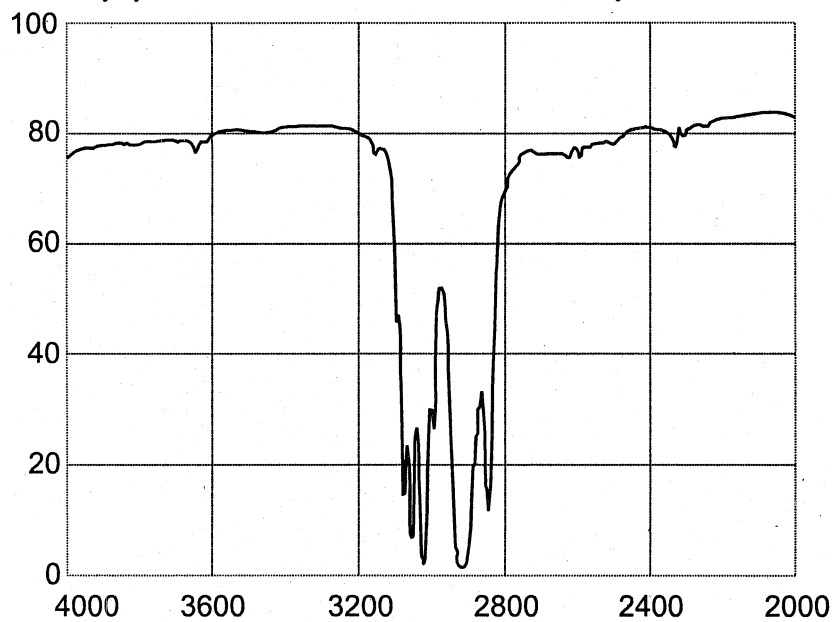
Đối với phổ của dung dịch, dải phổ mà ở đó sự hấp thụ của dung môi rất mạnh thì không cần quan tâm. Dải phổ này trong phổ đối chiếu là một đường thẳng nằm ngang.

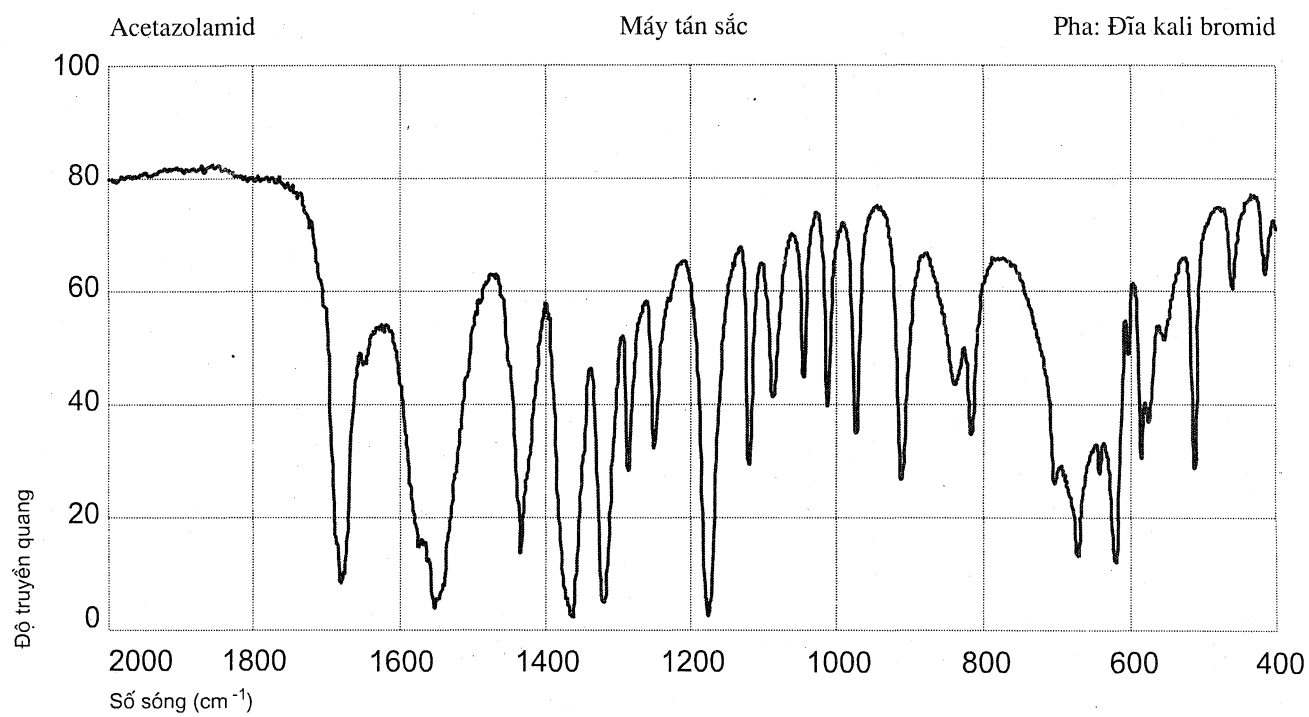
PĐC 001: Polystyren

Polystyren

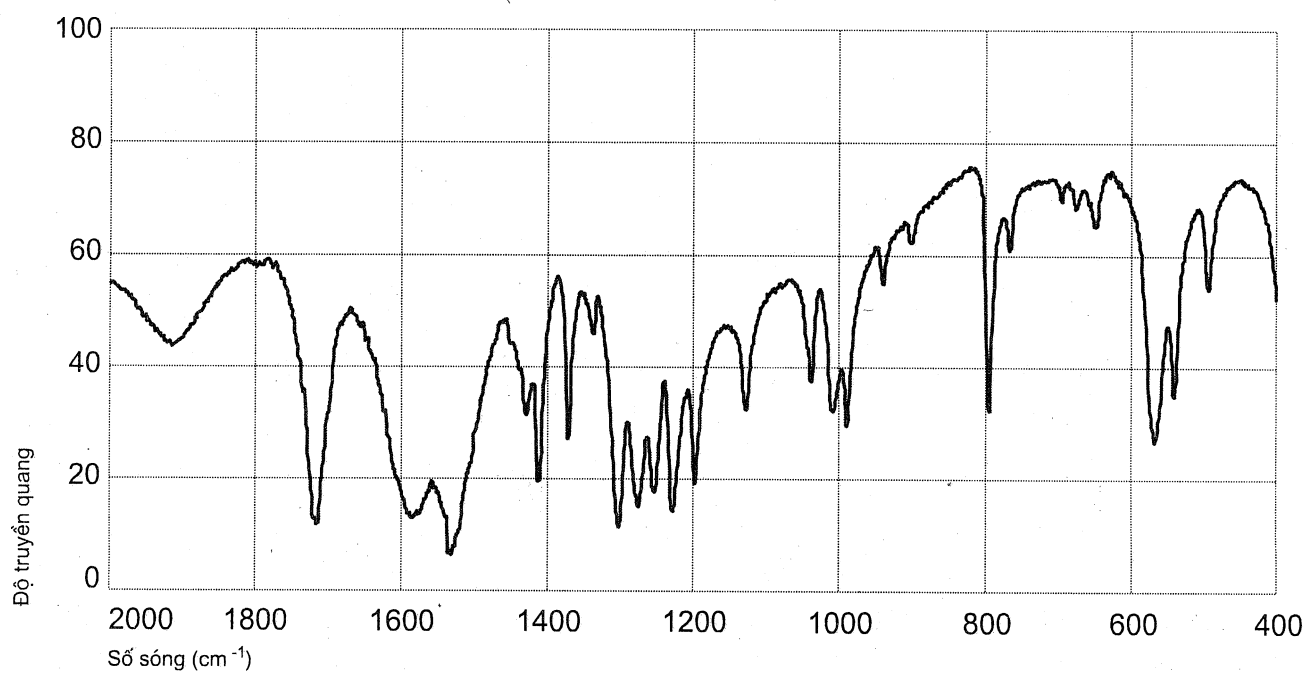
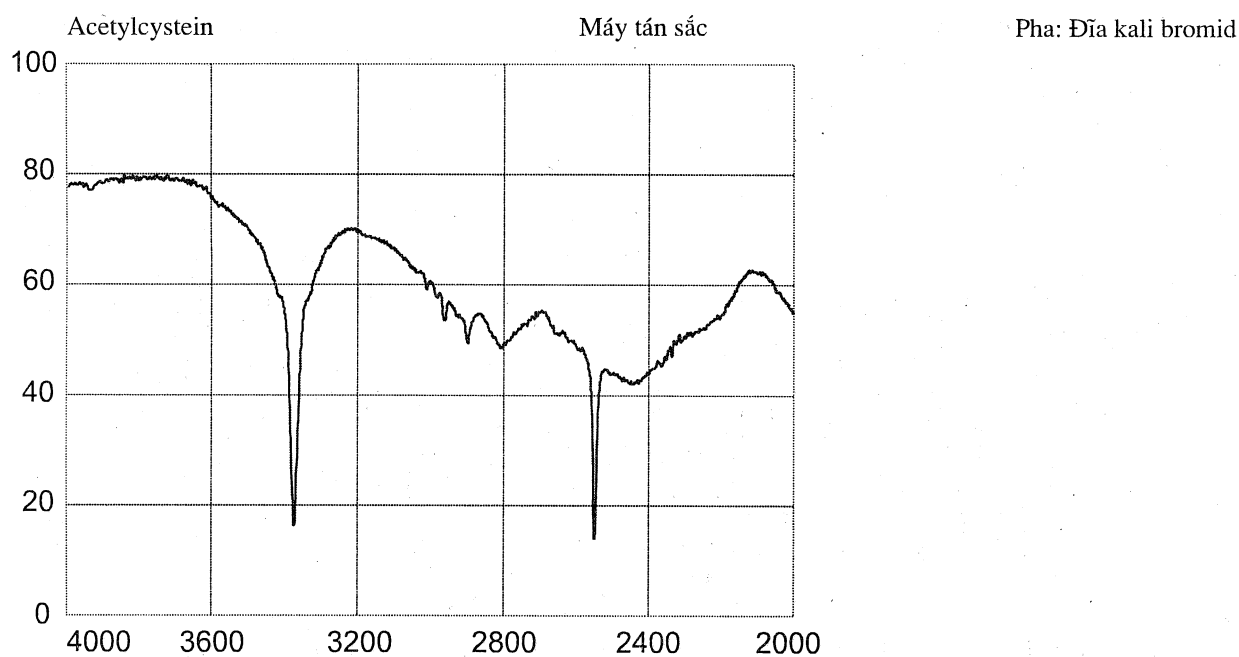
Máy tán sắc

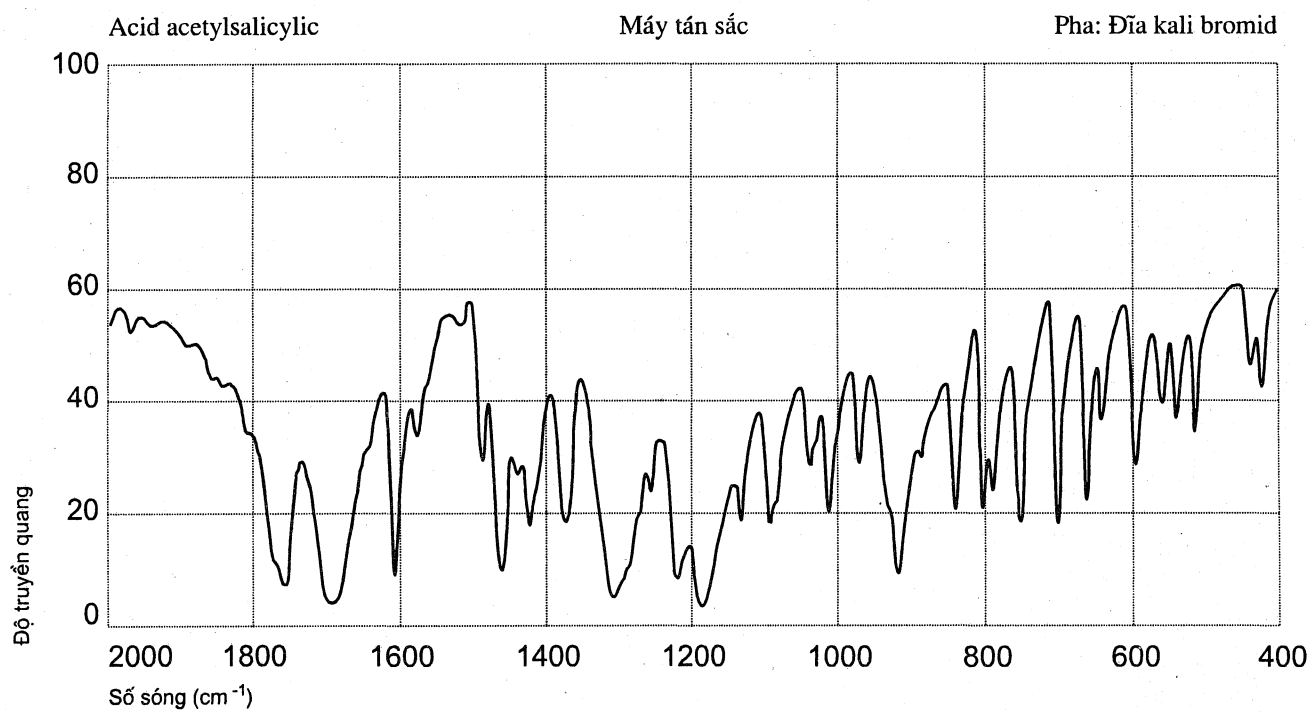
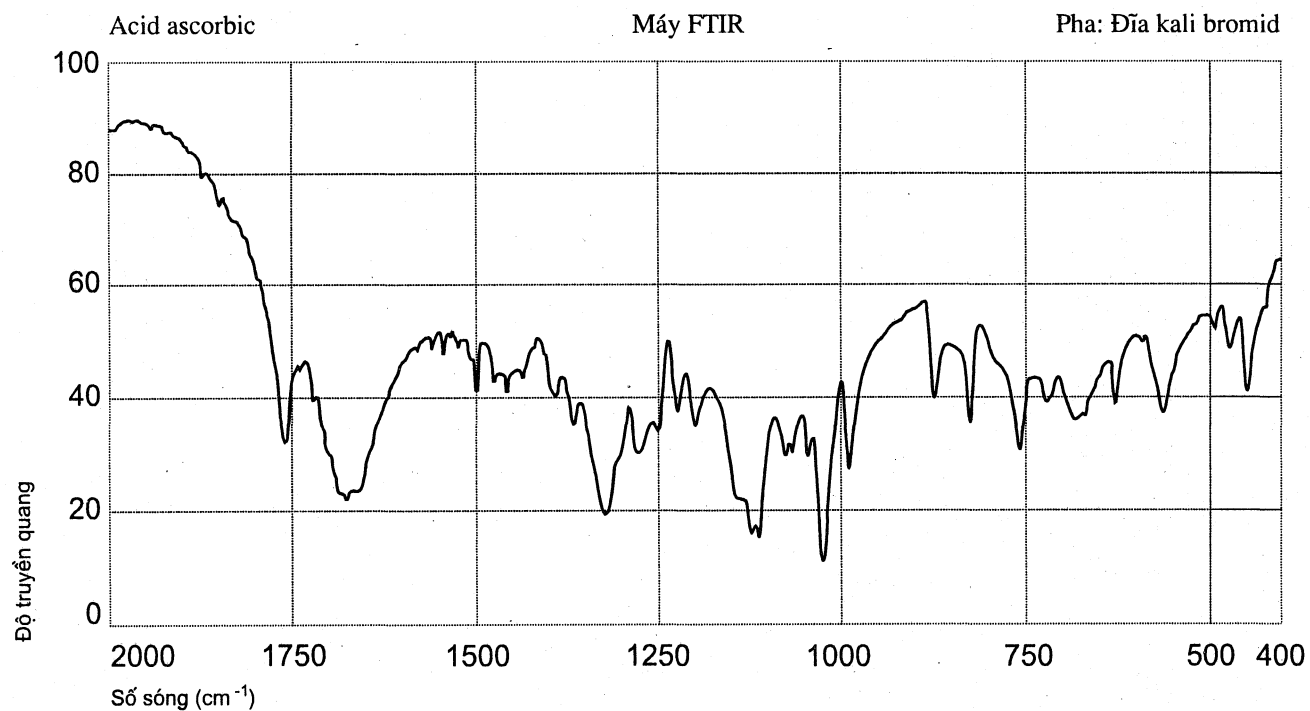
Pha: Phim mỏng, dày 0,038 mm

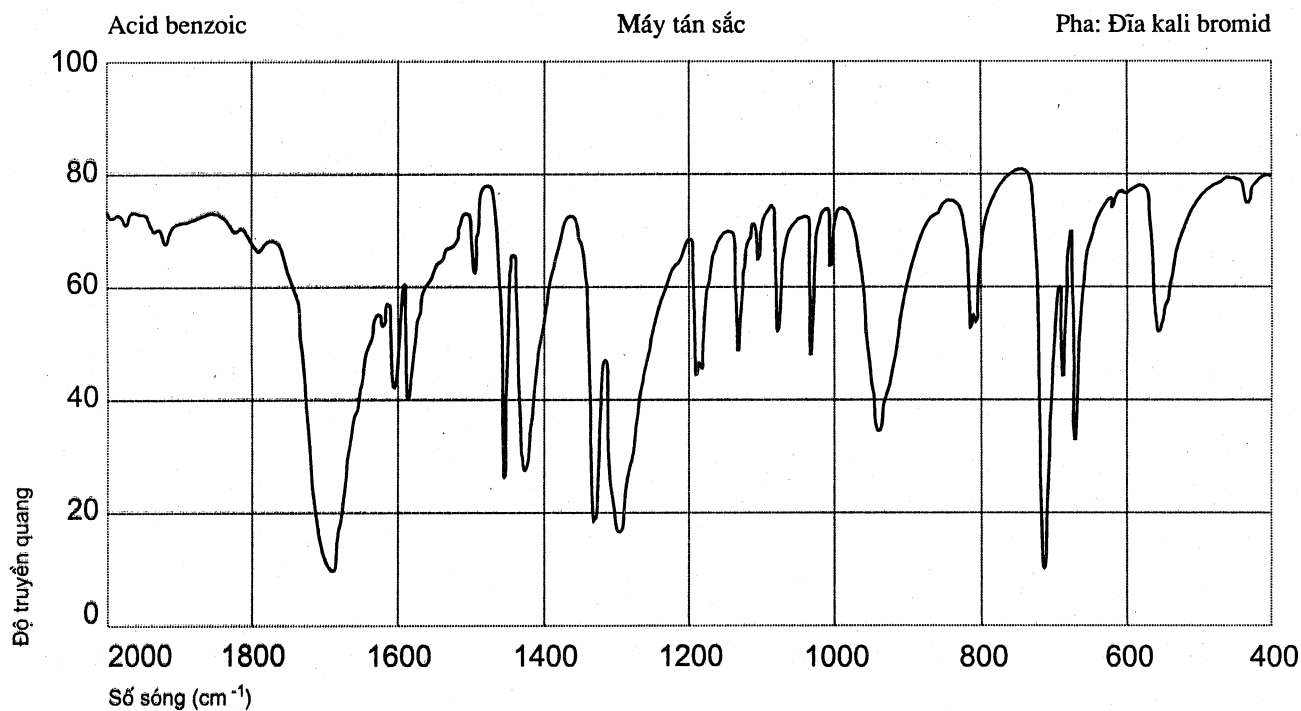
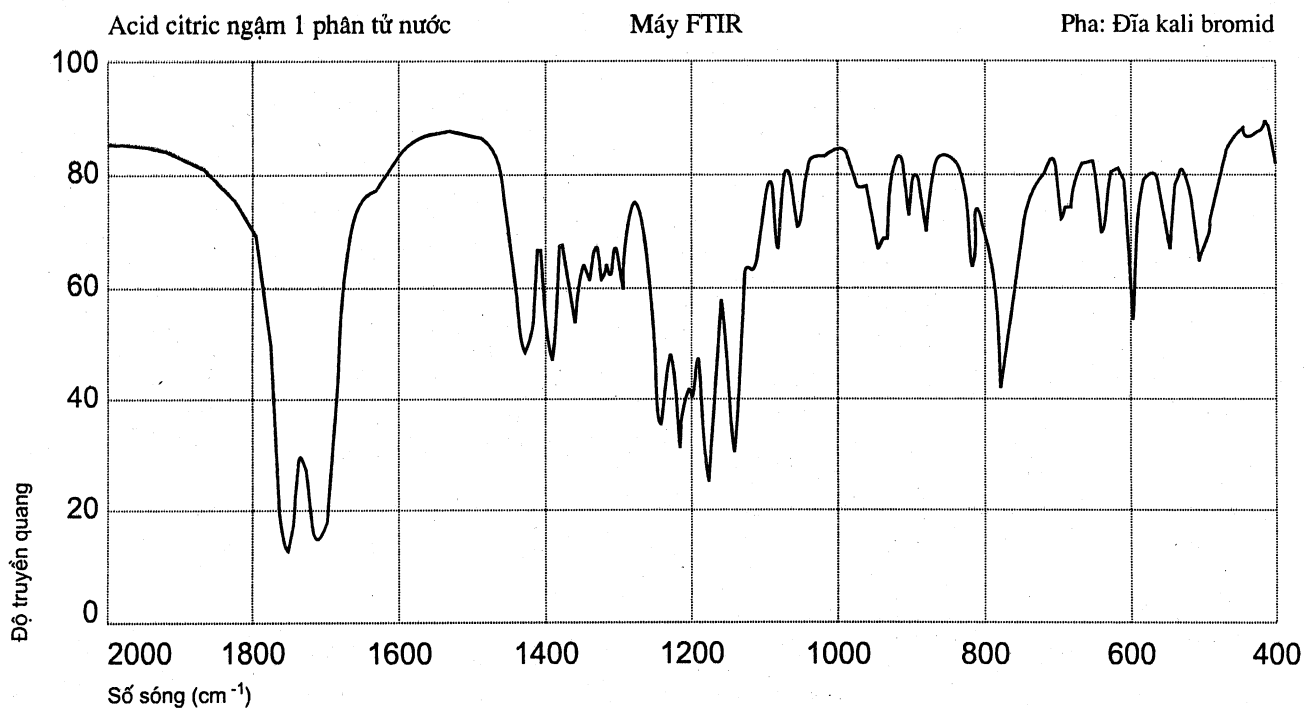


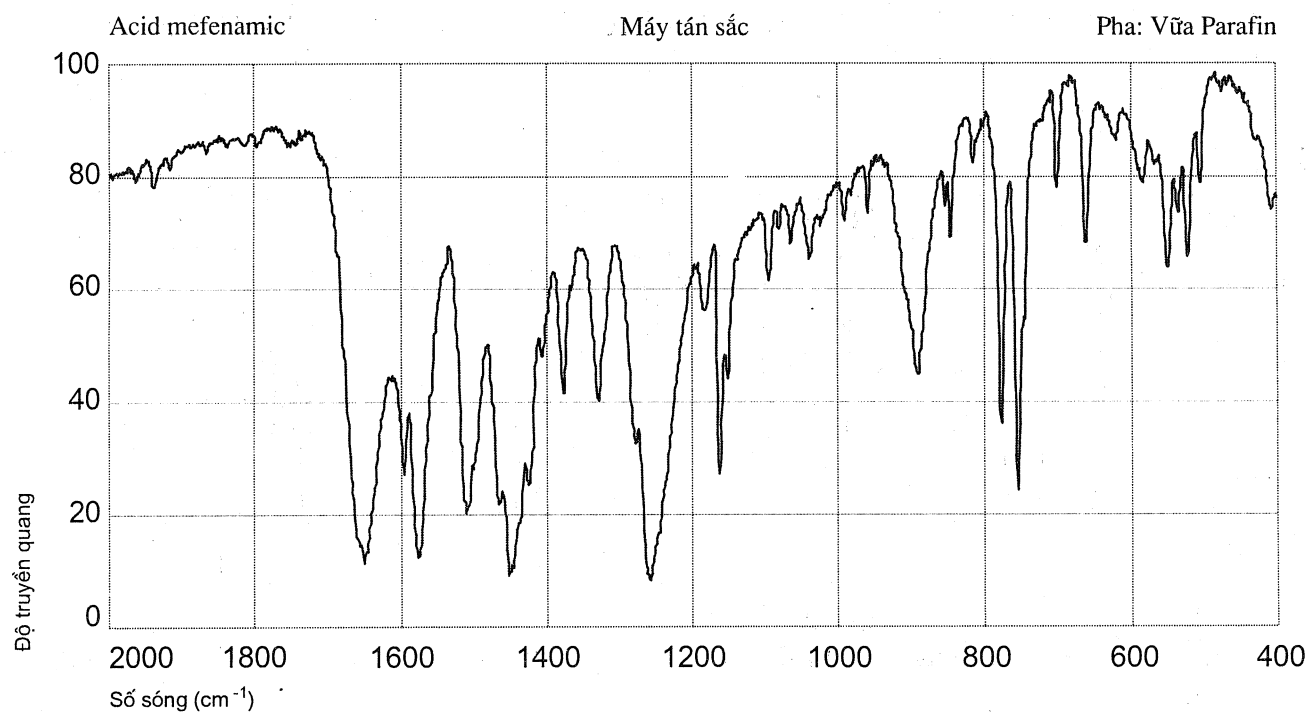
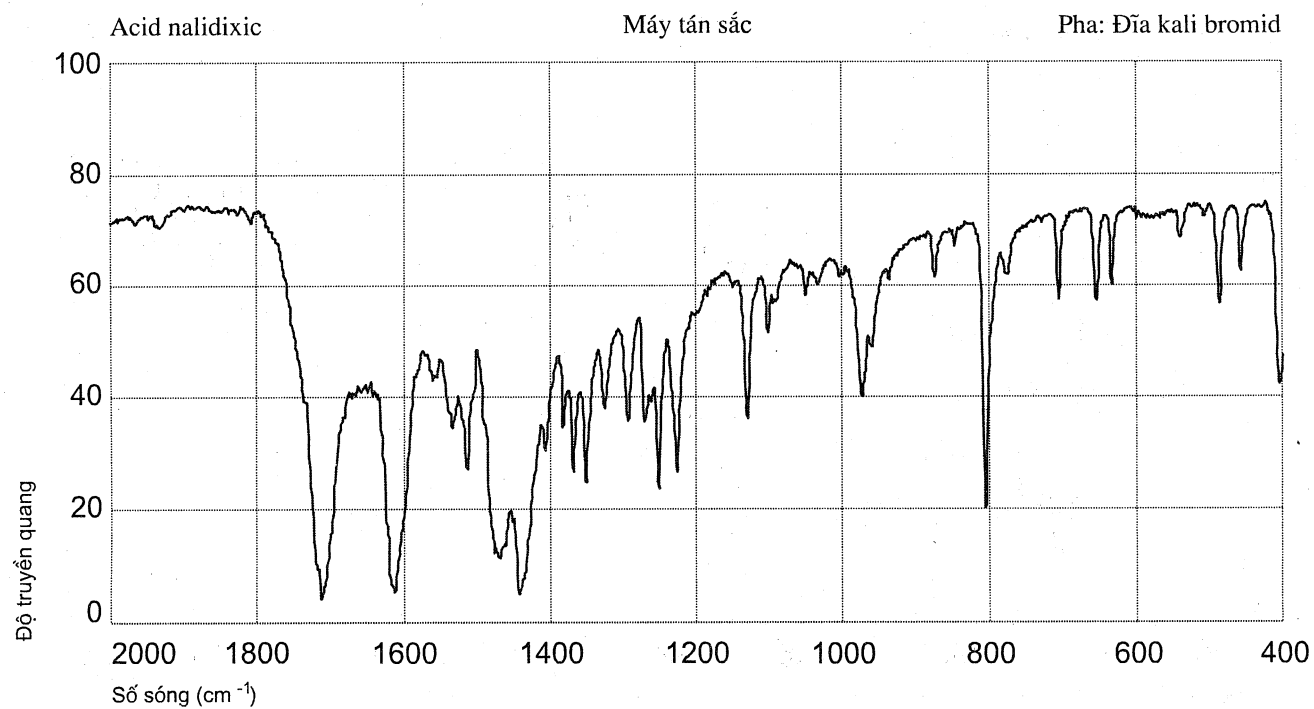
PĐC 002: Acetazolamid

PĐC 003: Acetylcystein

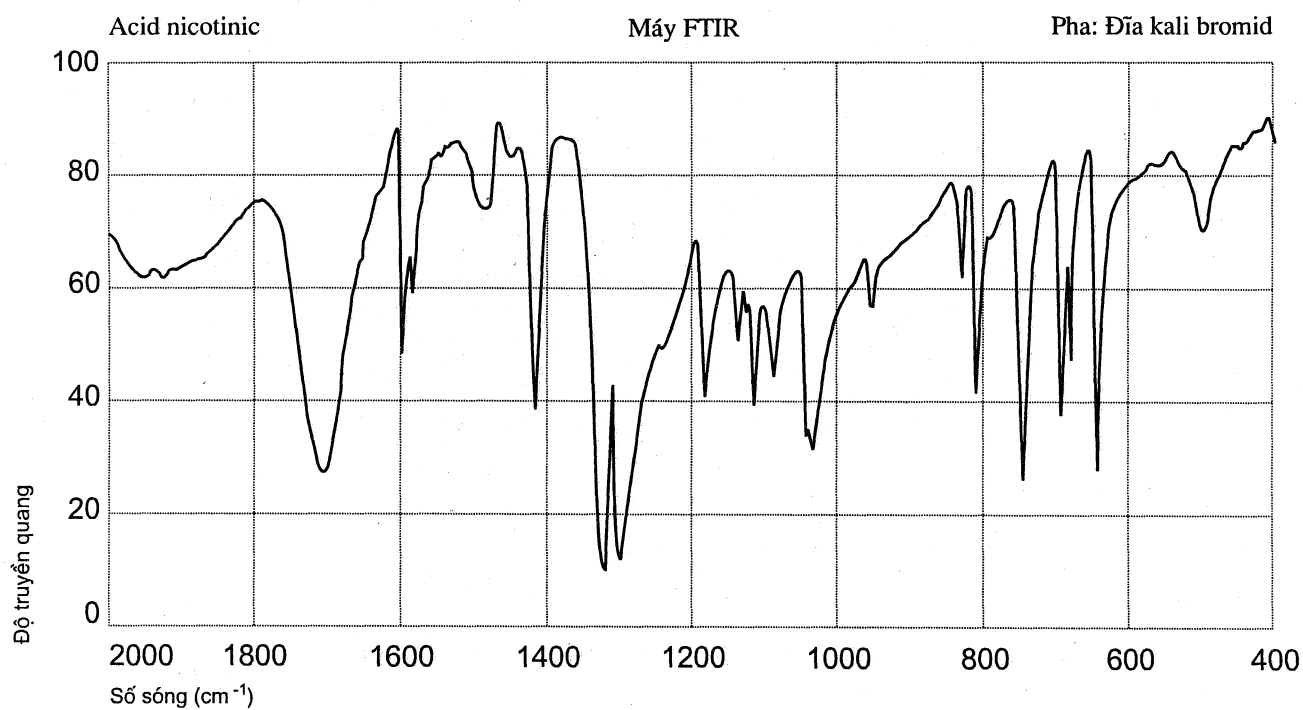


PĐC 004: Acid acetylsalicylic**PĐC 005: Acid ascorbic**

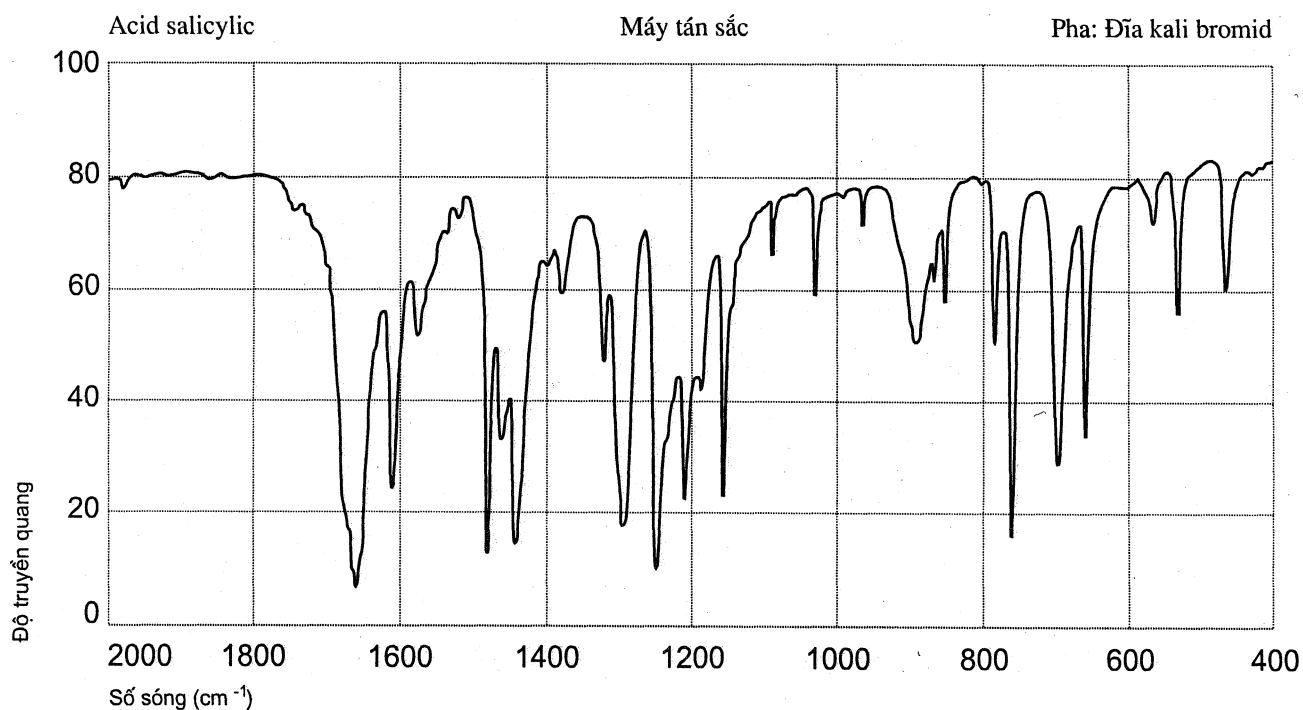
PĐC 006: Acid benzoic**PĐC 007: Acid citric ngậm 1 phân tử nước**

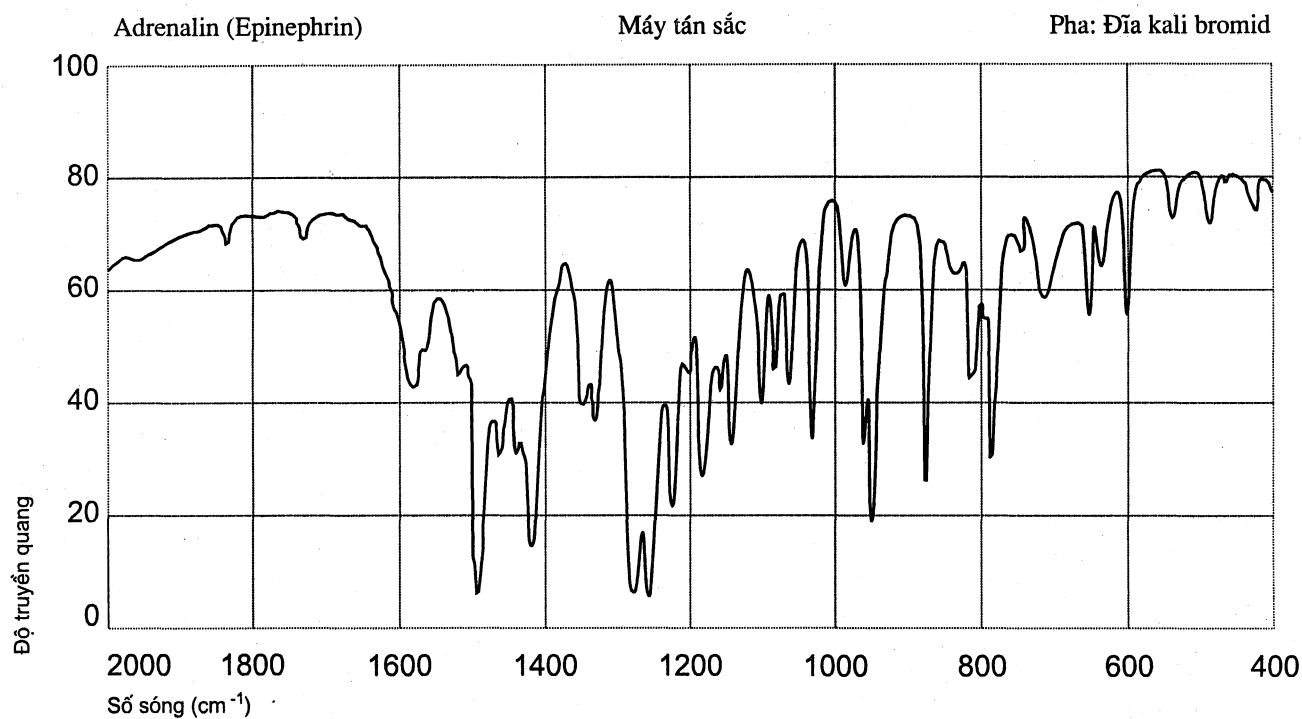
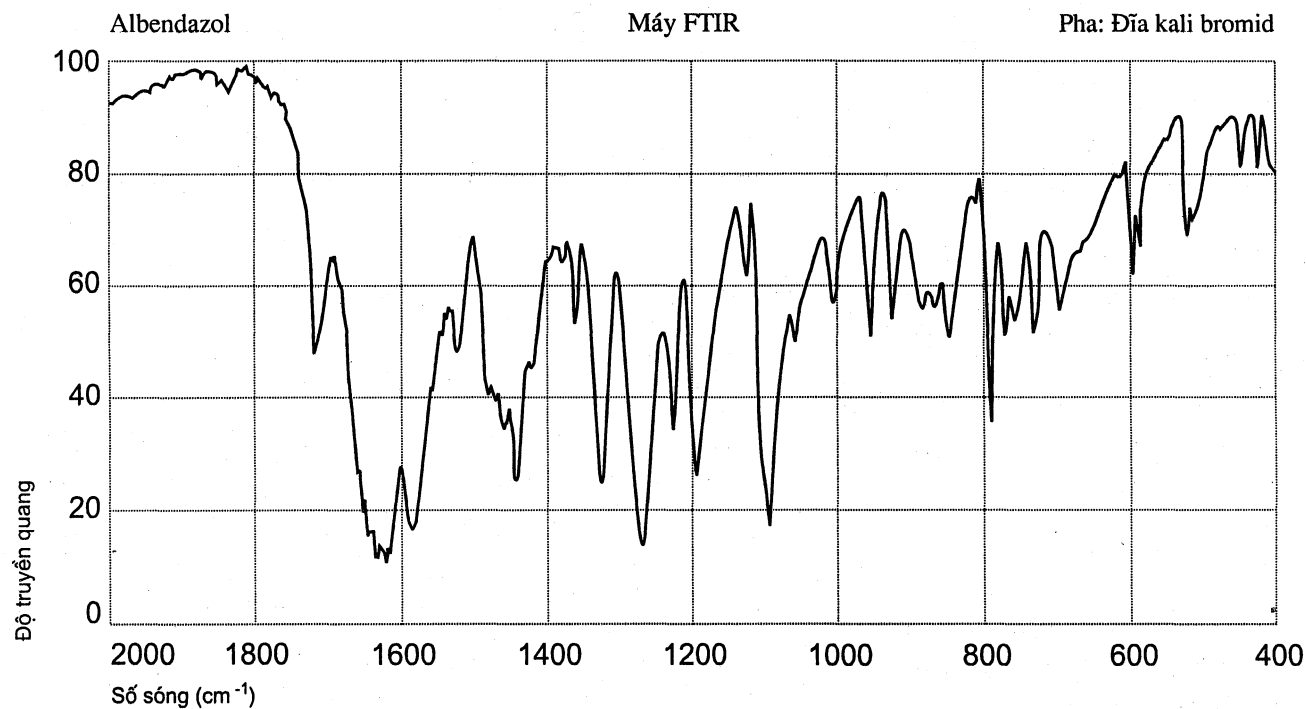
PĐC 008: Acid mefenamic**PĐC 009: Acid nalidixic**

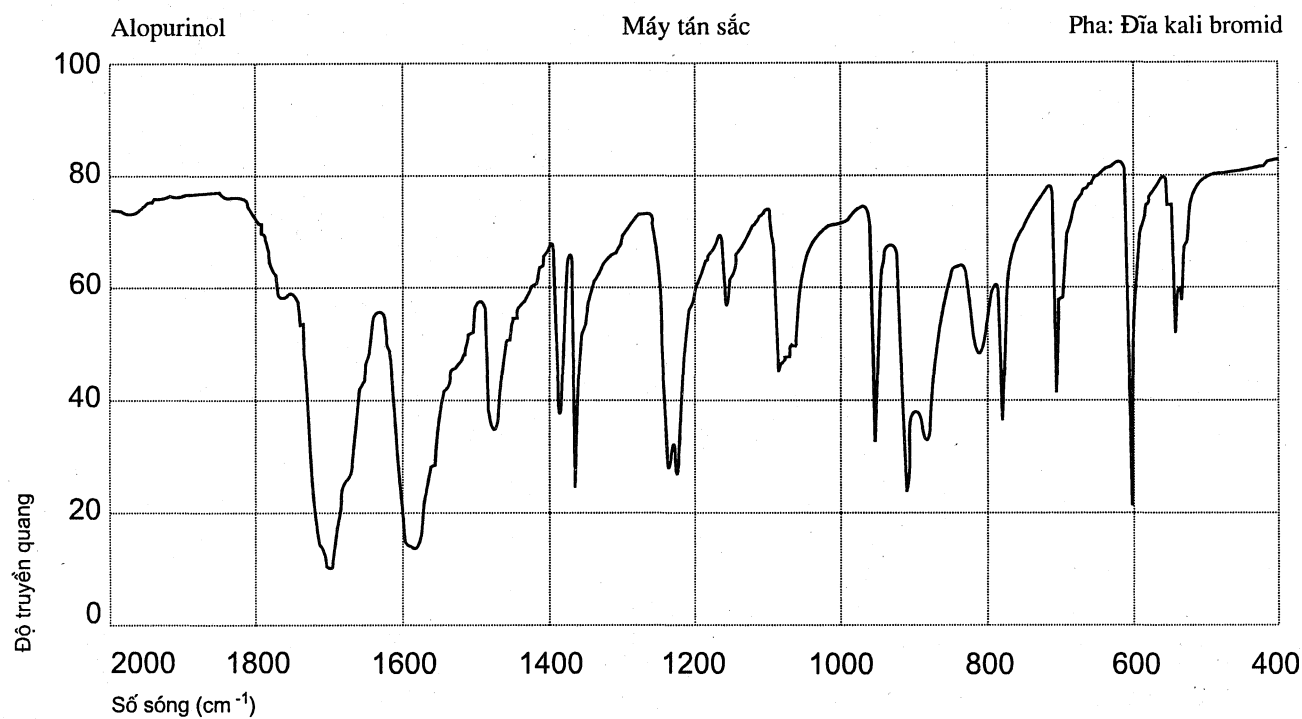
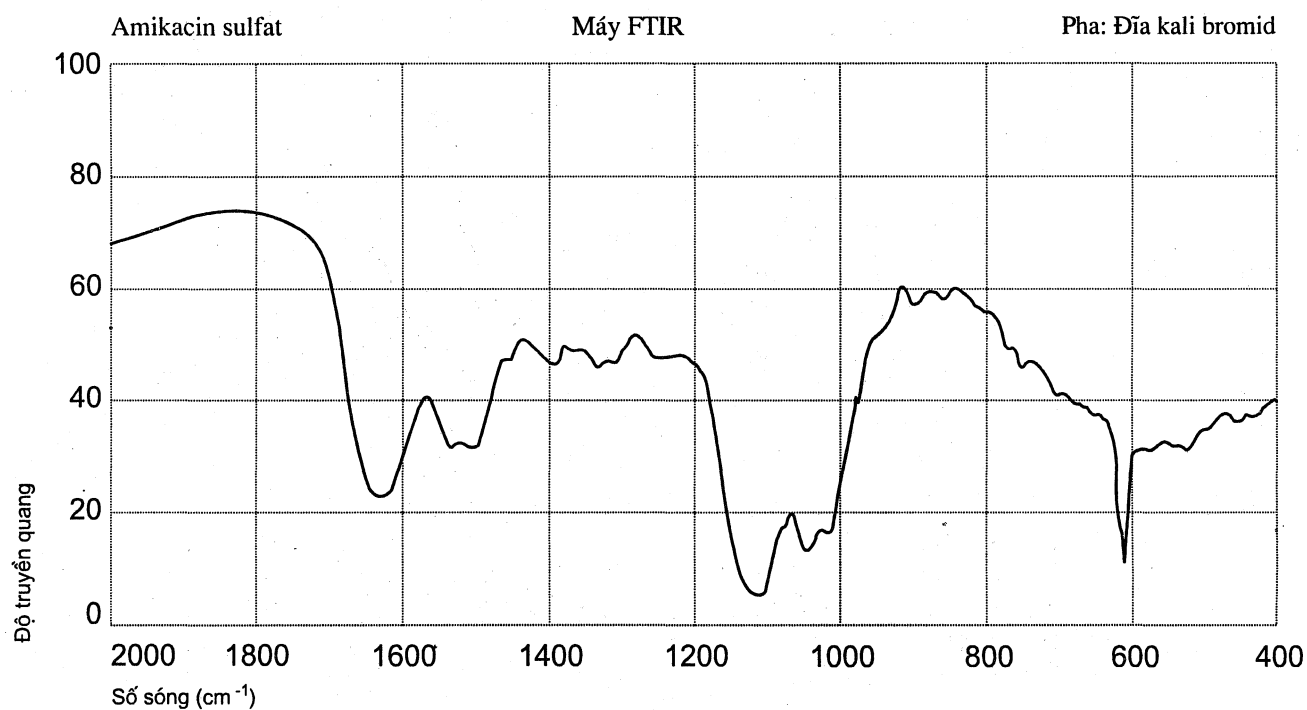
PĐC 010: Acid nicotinic

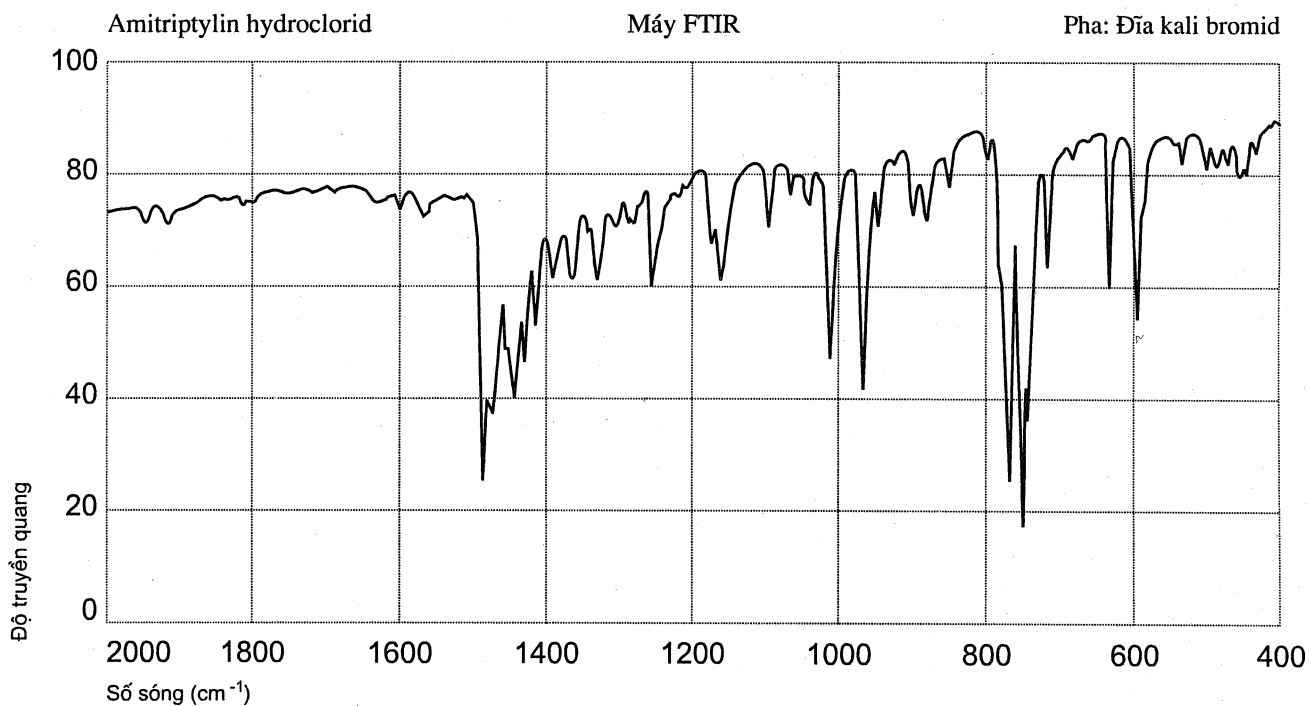
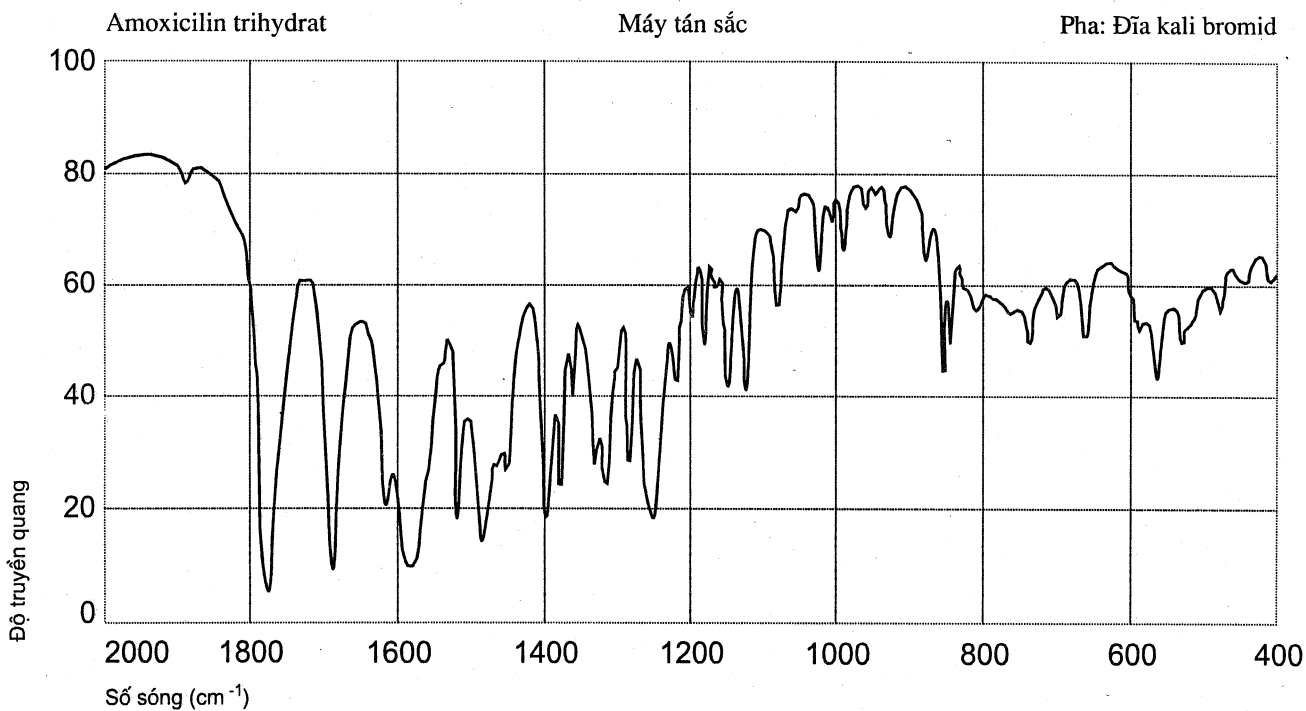


PĐC 011: Acid salicylic

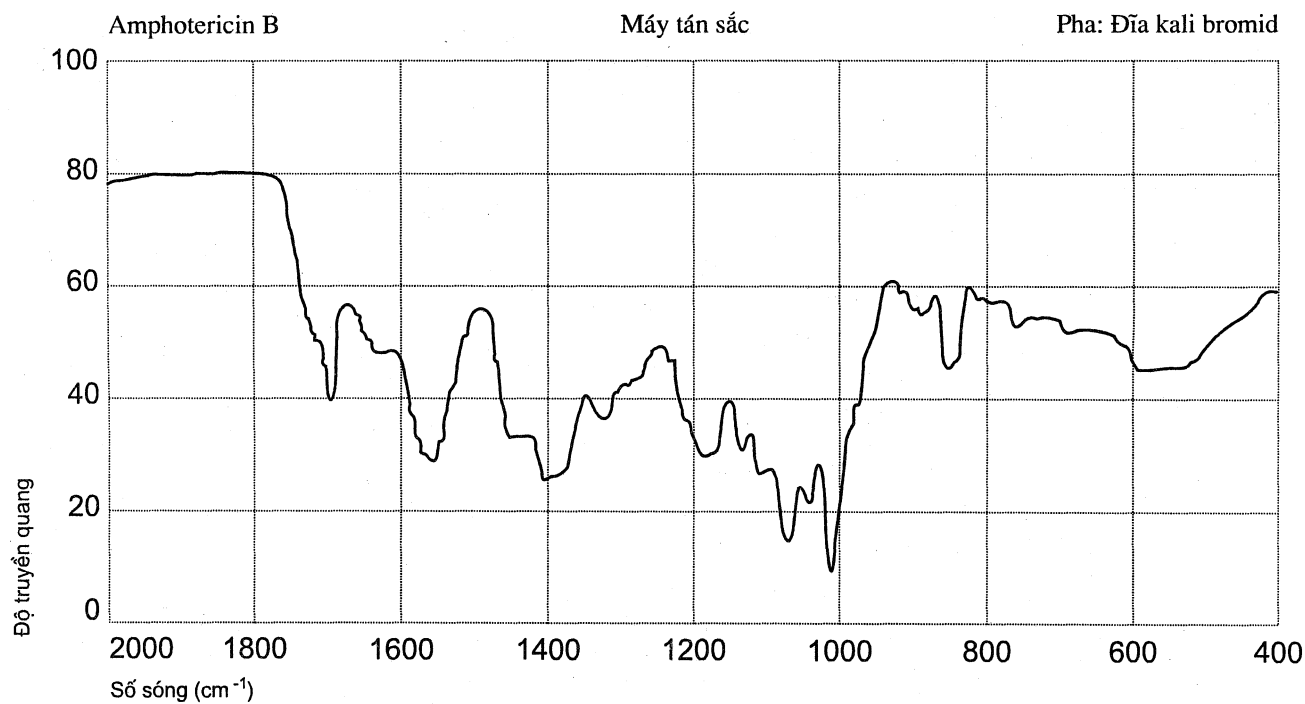


PĐC 013: Adrenalin (Epinephrin)**PĐC 014: Albendazol**

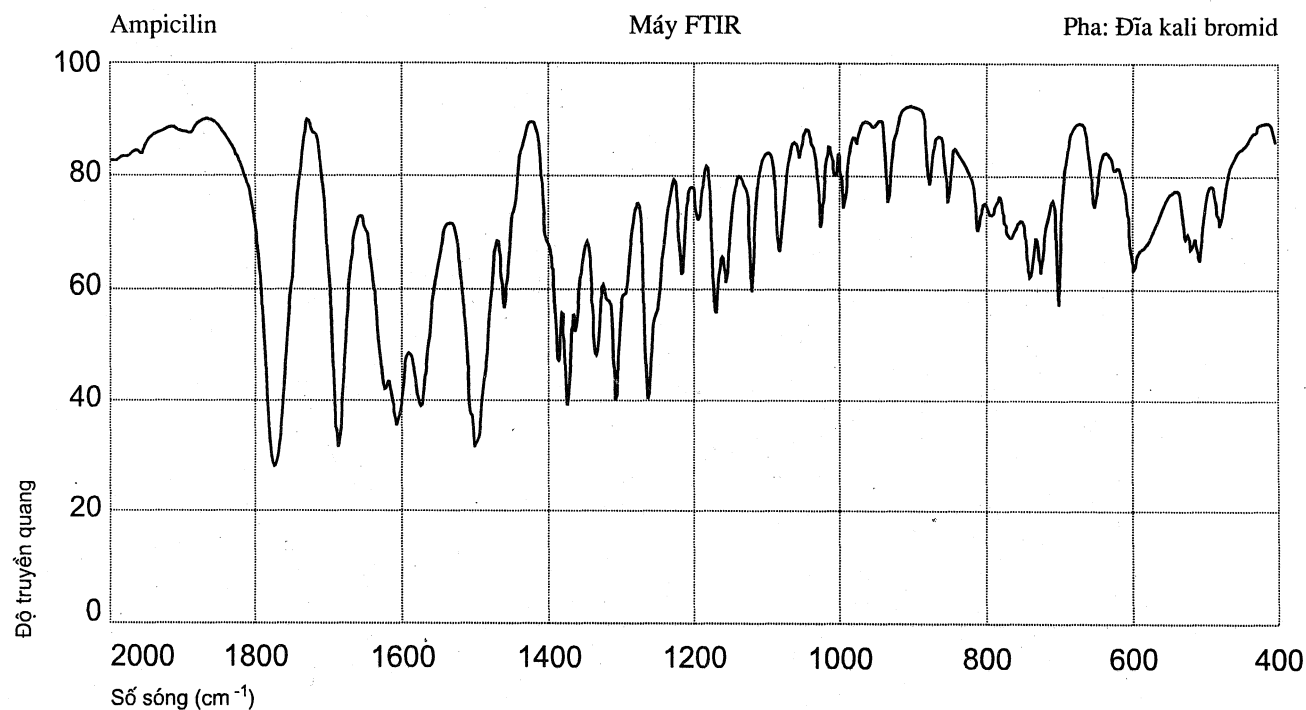
PĐC 015: Alopurinol**PĐC 016: Amikacin sulfat**

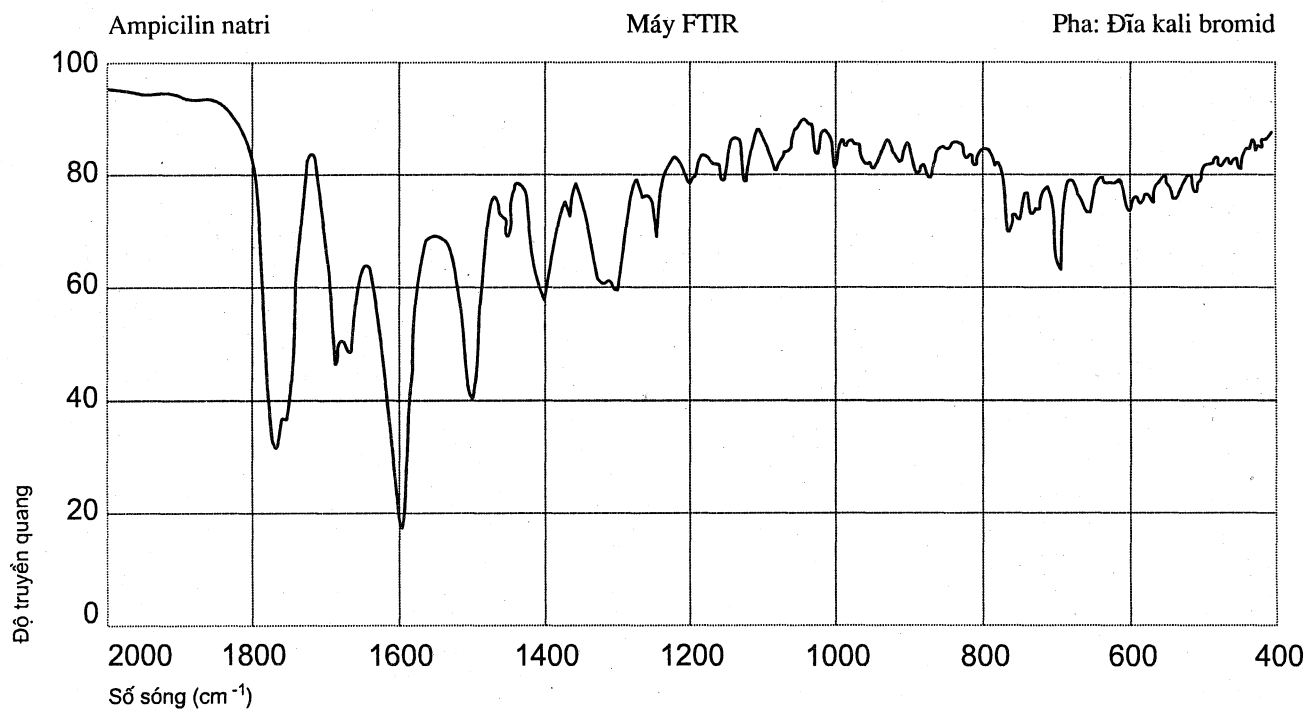
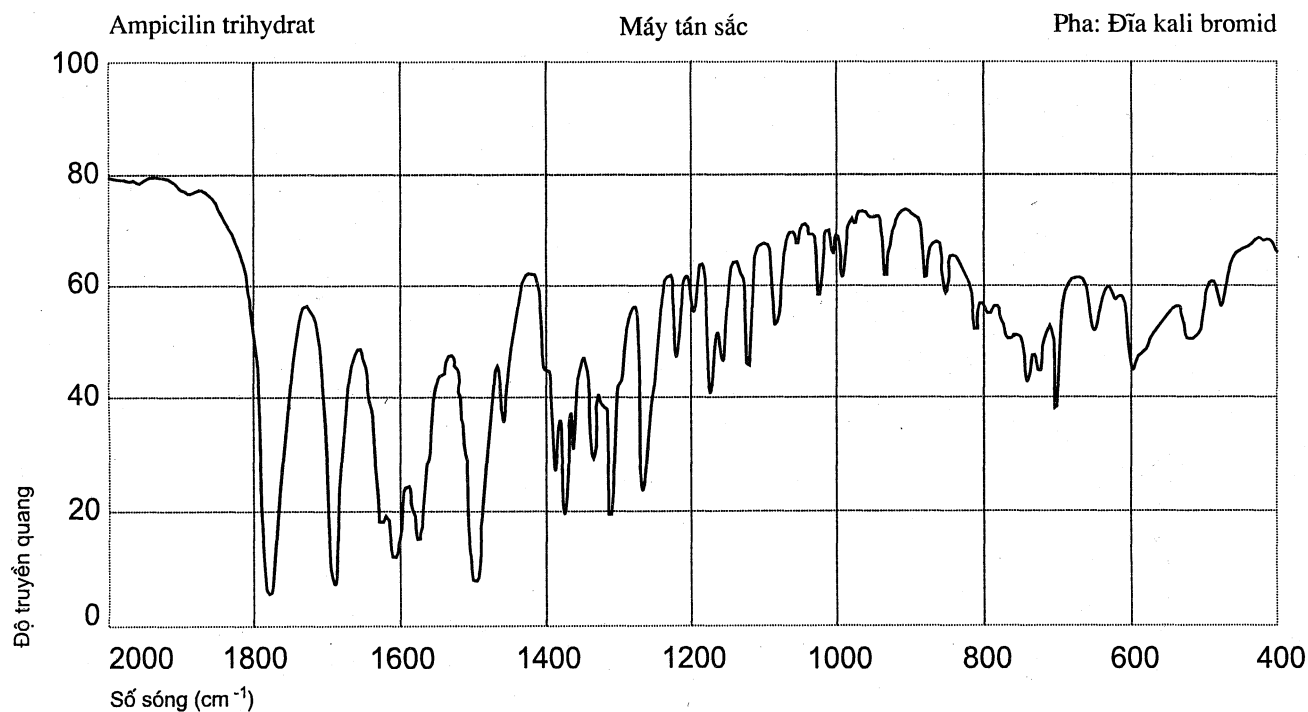
PĐC 017: Amitriptylin hydroclorid**PĐC 018: Amoxicilin trihydrat**

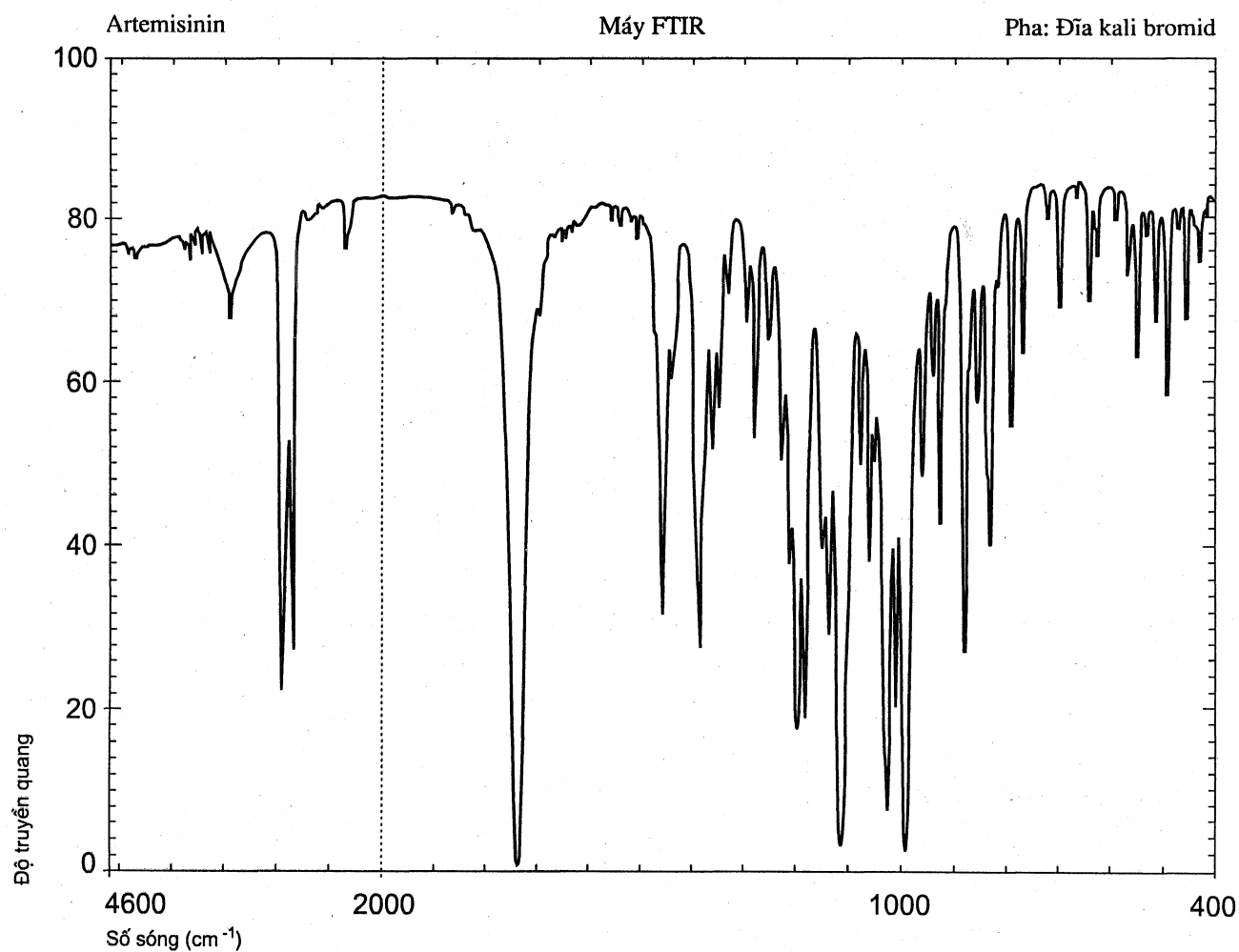
PĐC 019: Amphotericin B

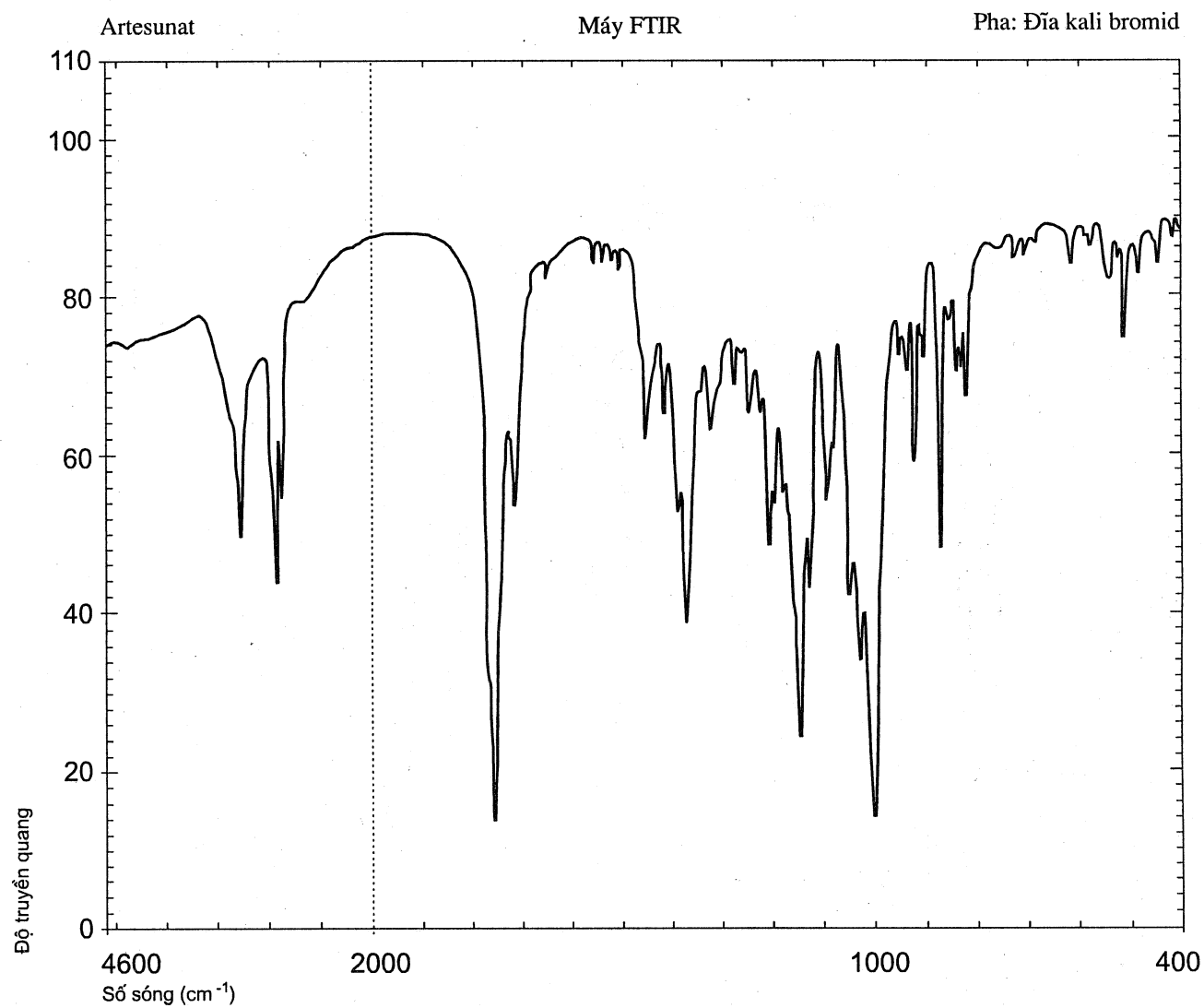


PĐC 020: Ampicilin

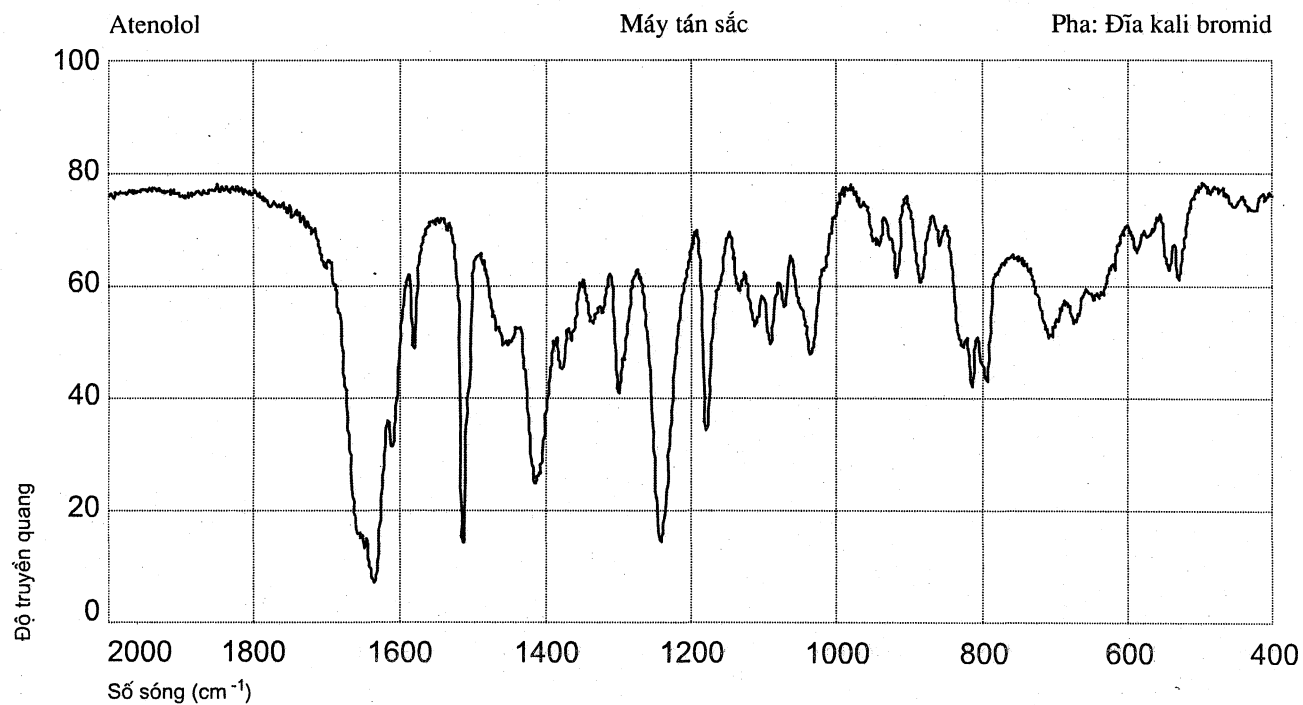


PĐC 021: Ampicilin natri**PĐC 022: Ampicilin trihydrat**

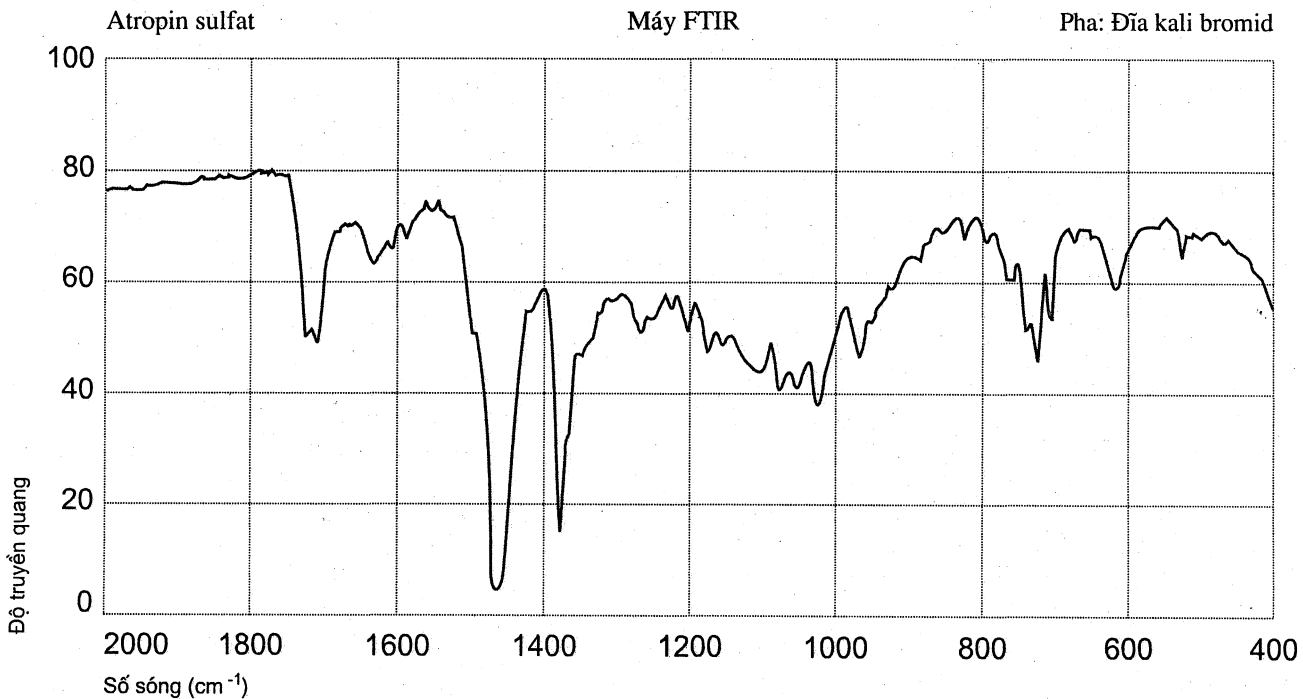
PĐC 023: Artemisinin

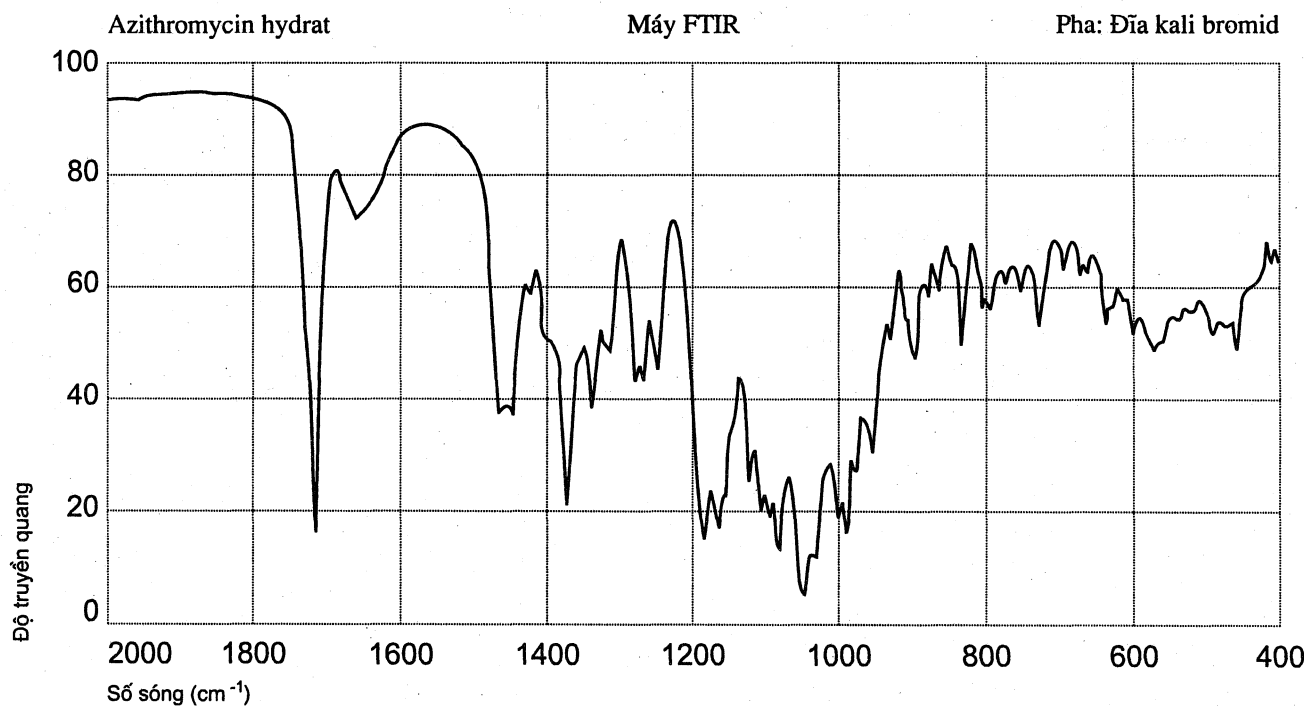
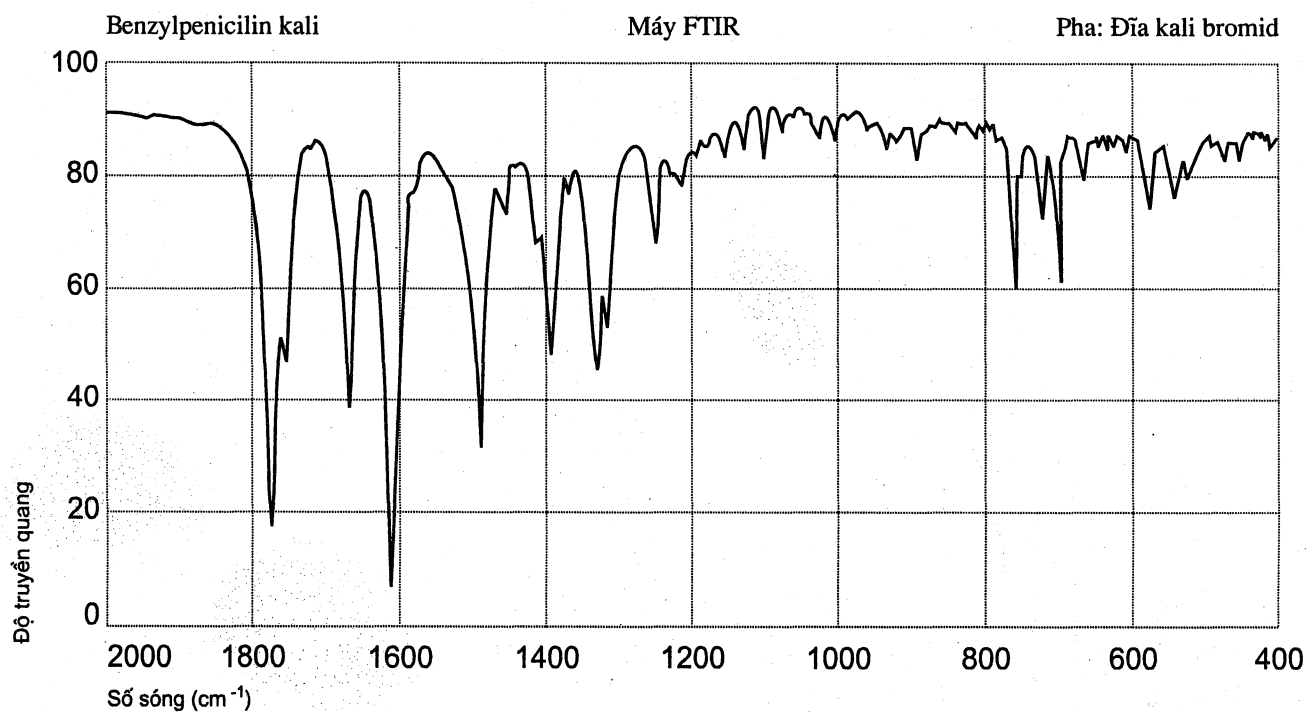
PĐC 024: Artesunat

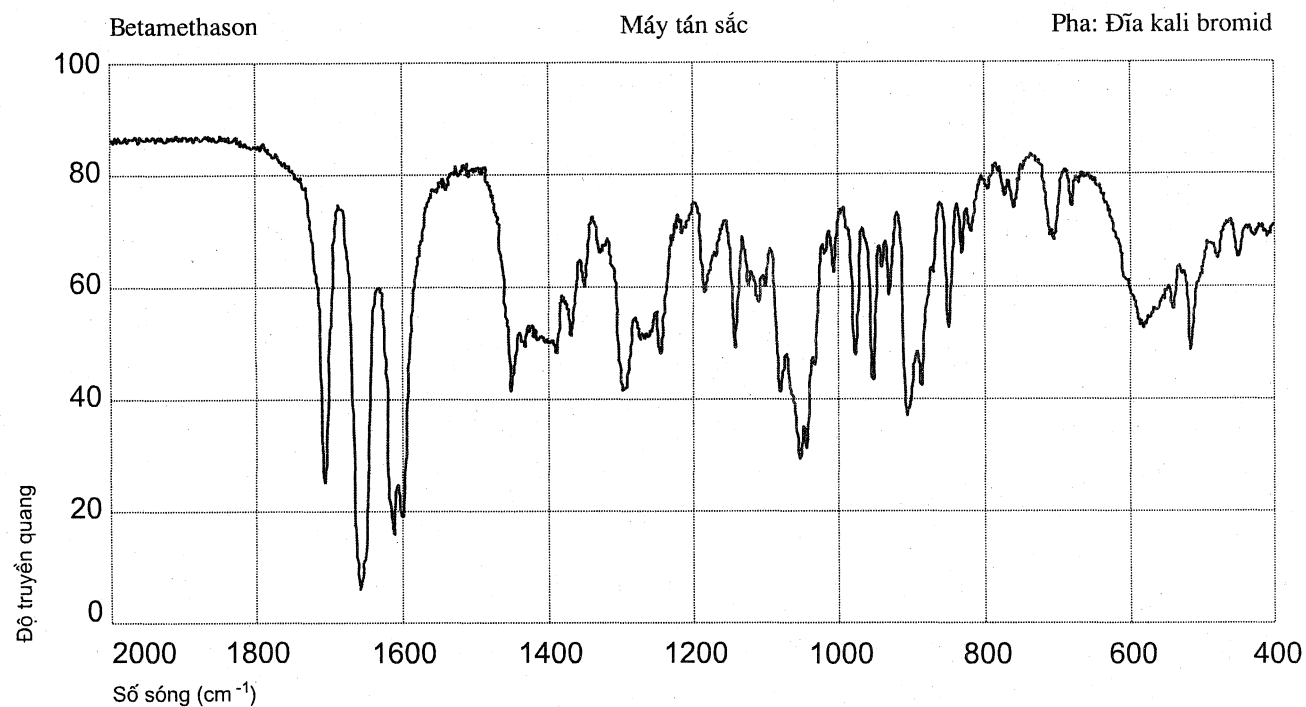
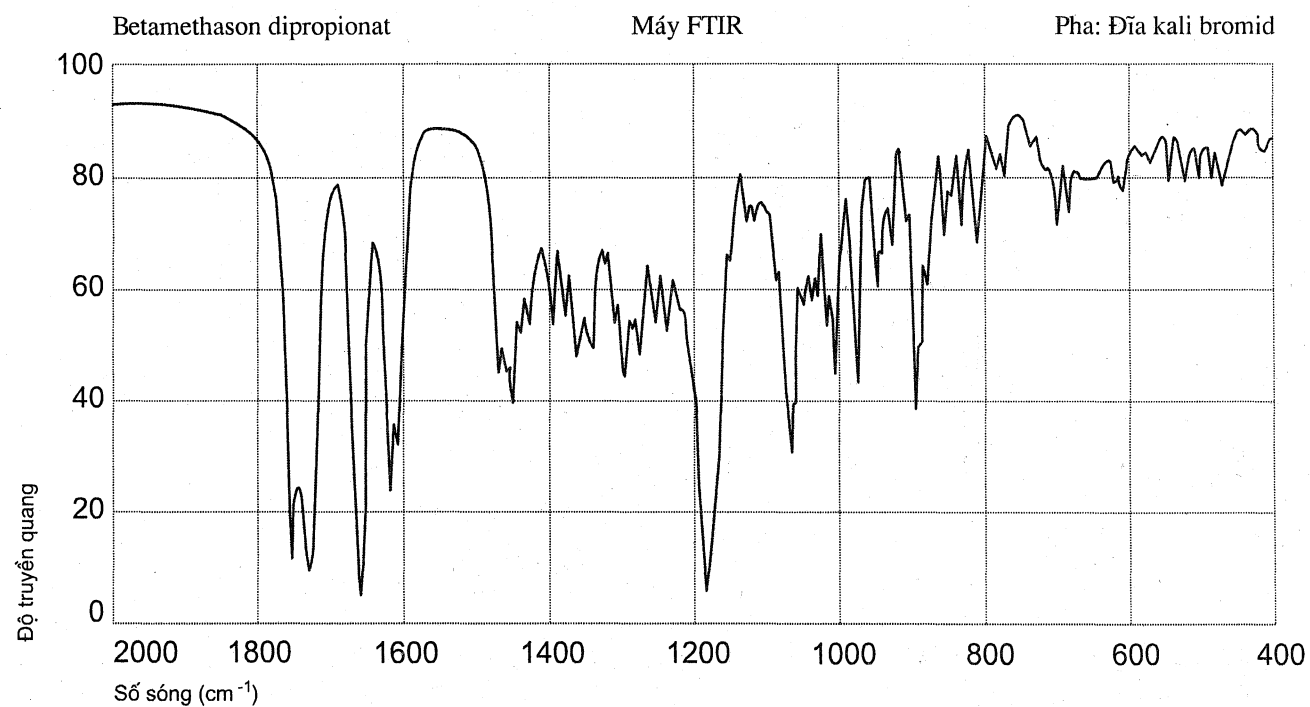
PĐC 025: Atenolol

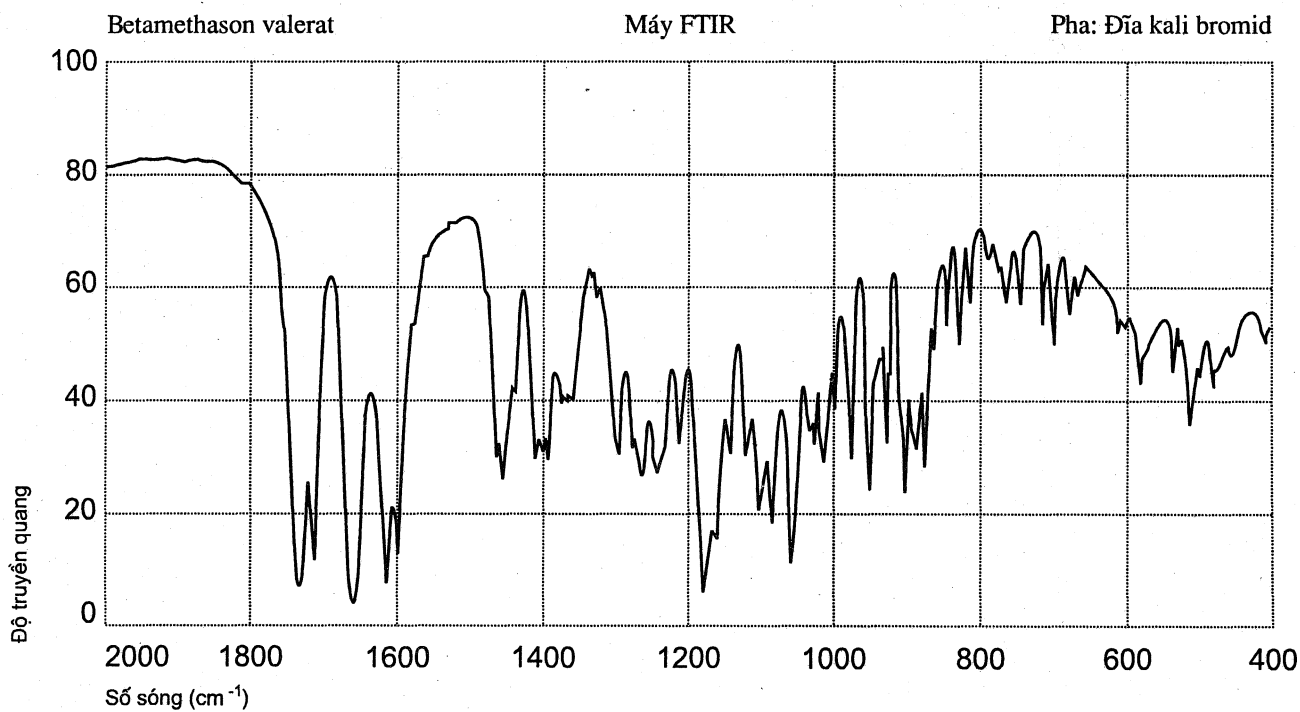
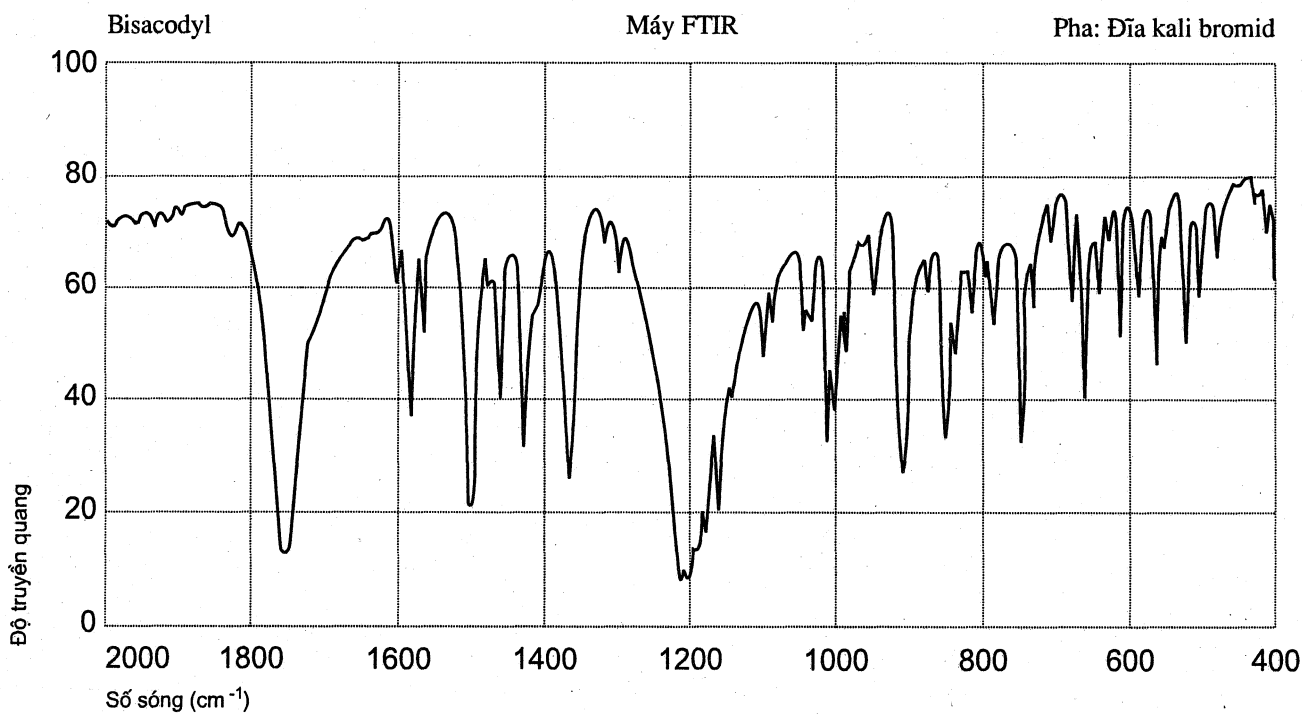


PĐC 026: Atropin sulfat

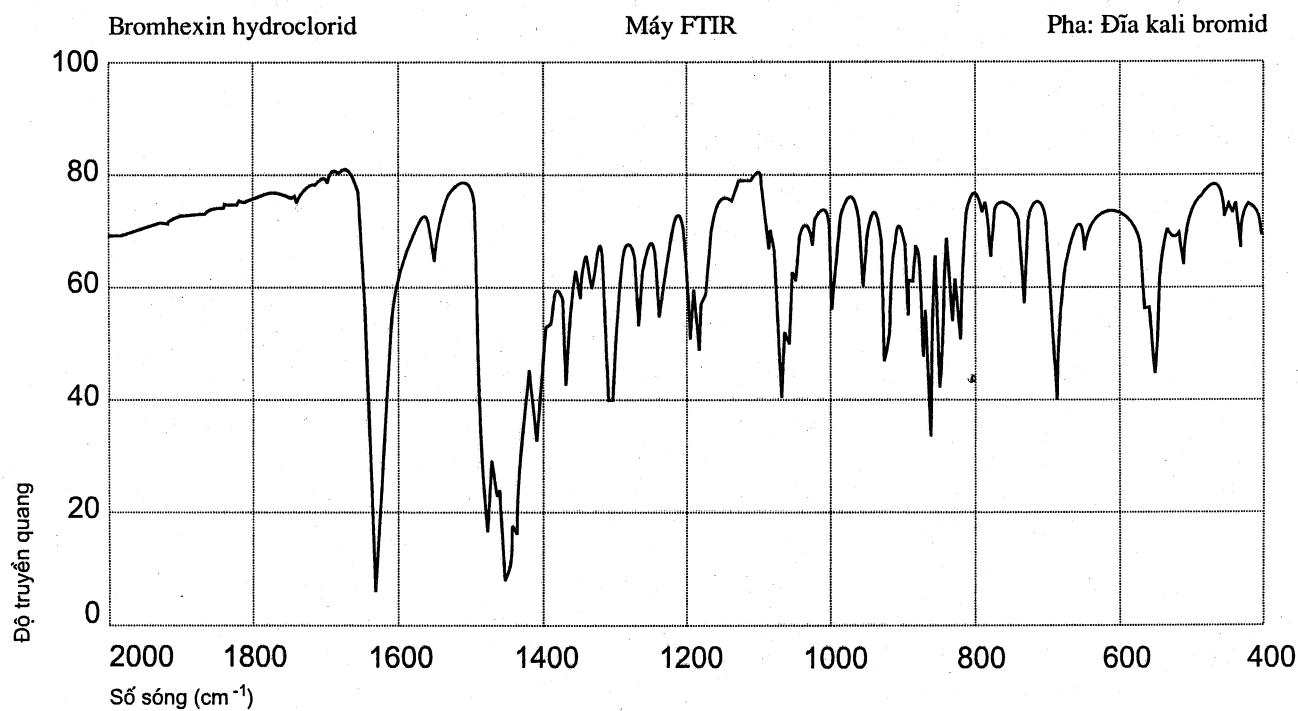


PĐC 027: Azithromycin hydrat**PĐC 028: Benzylpenicilin kali**

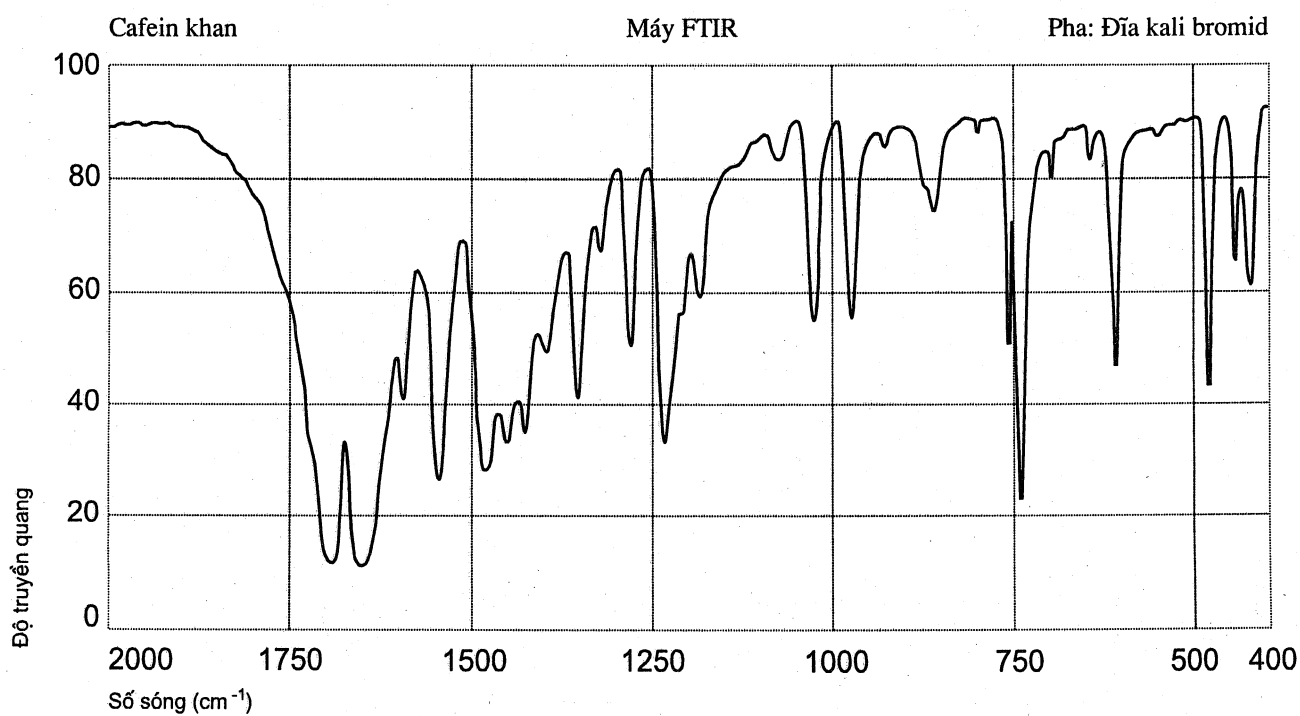
PĐC 029: Betamethason**PĐC 030: Betamethason dipropionat**

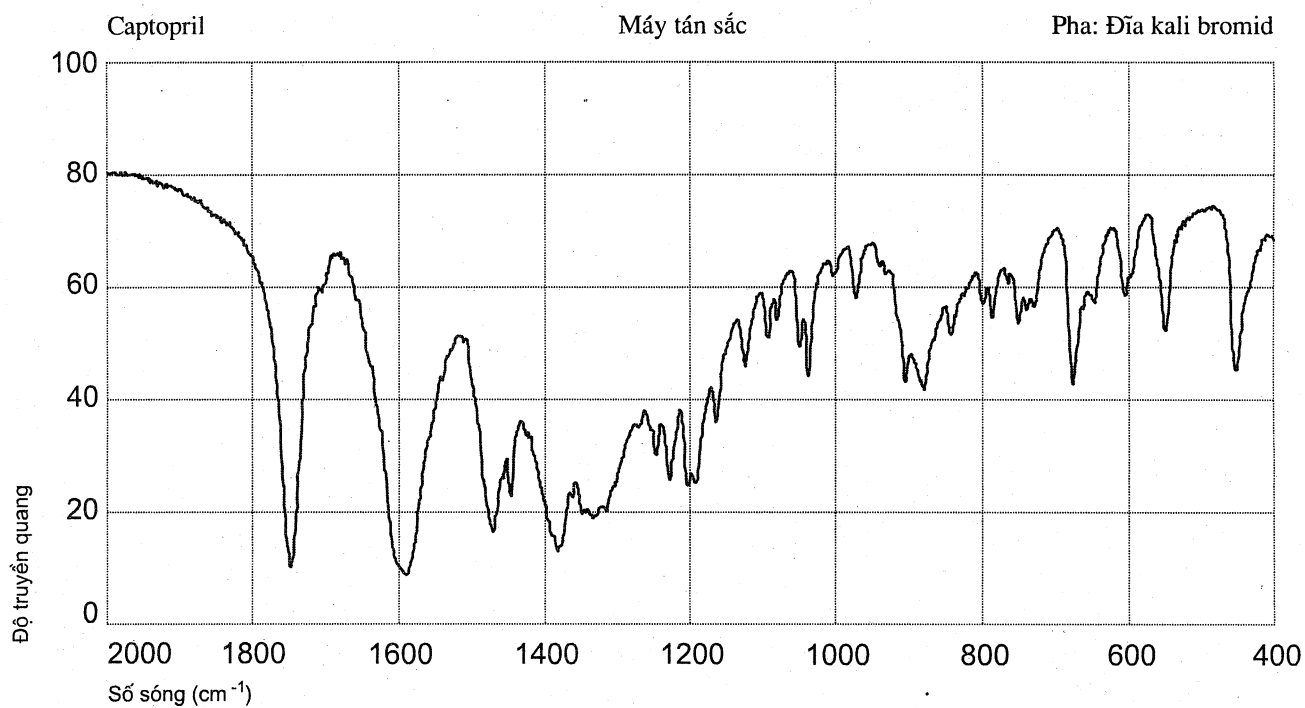
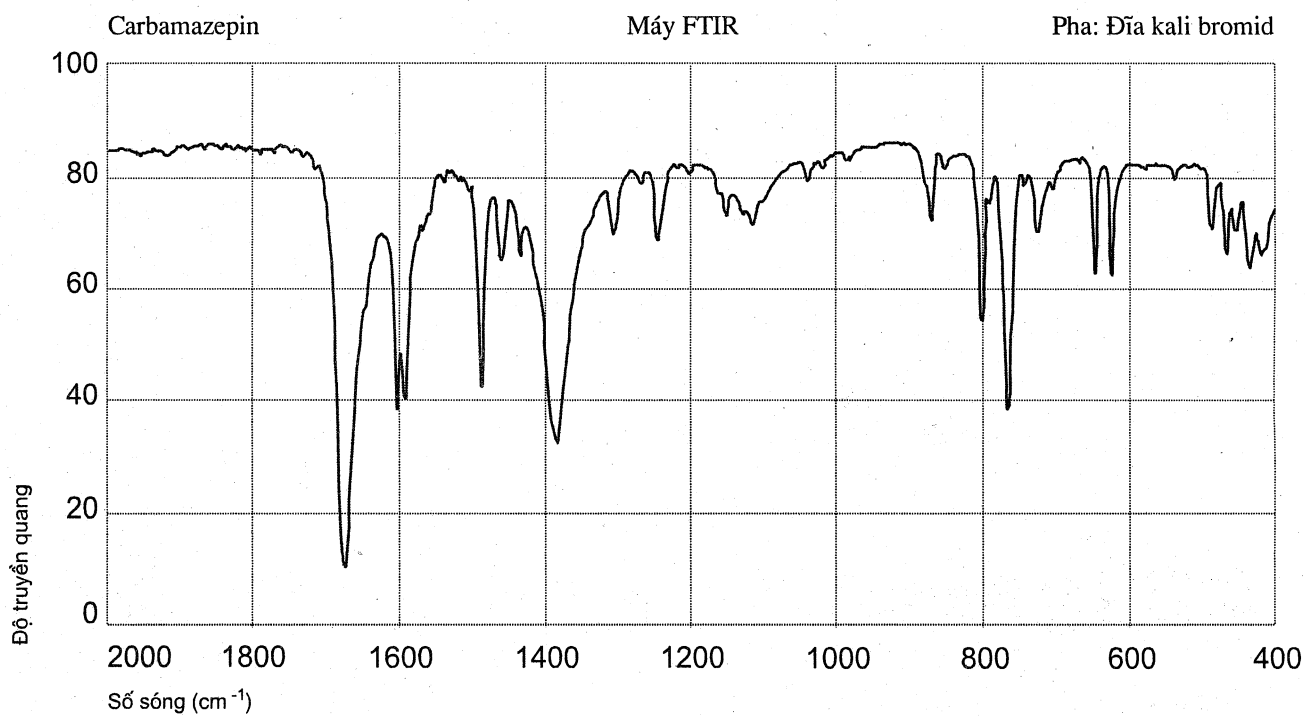
PĐC 031: Betamethason valerat**PĐC 032: Bisacodyl**

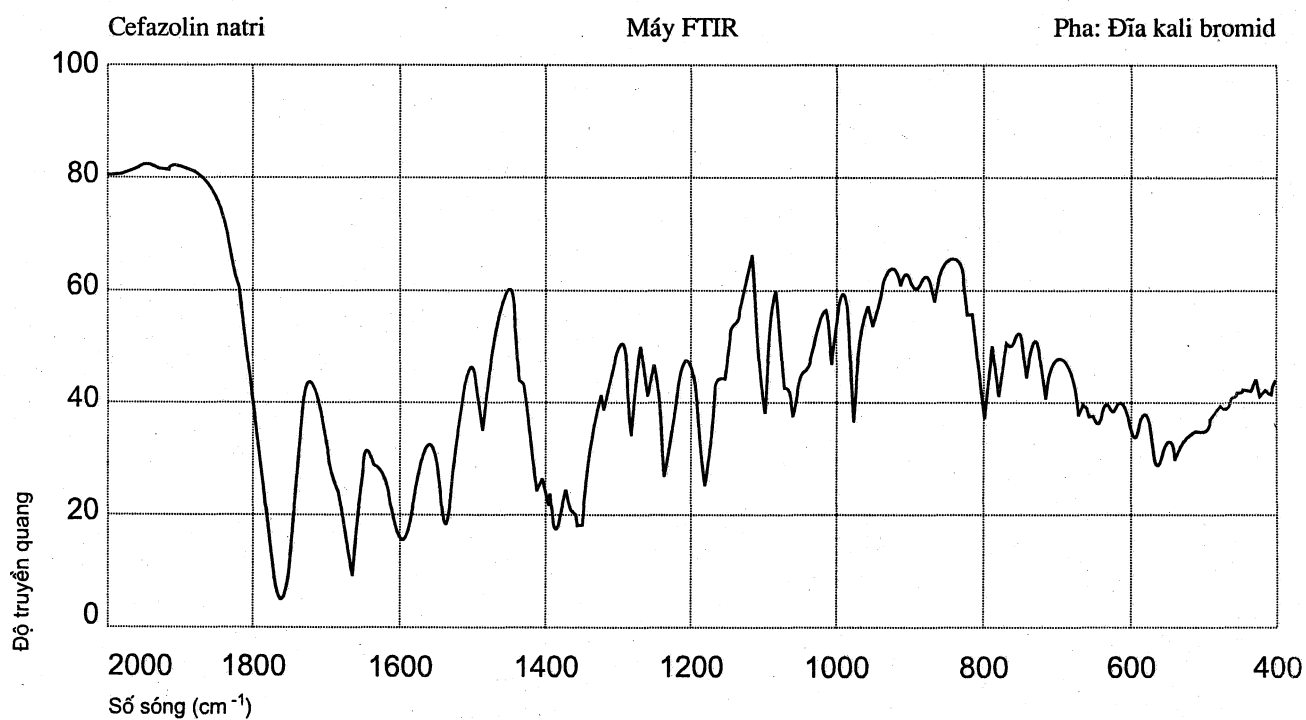
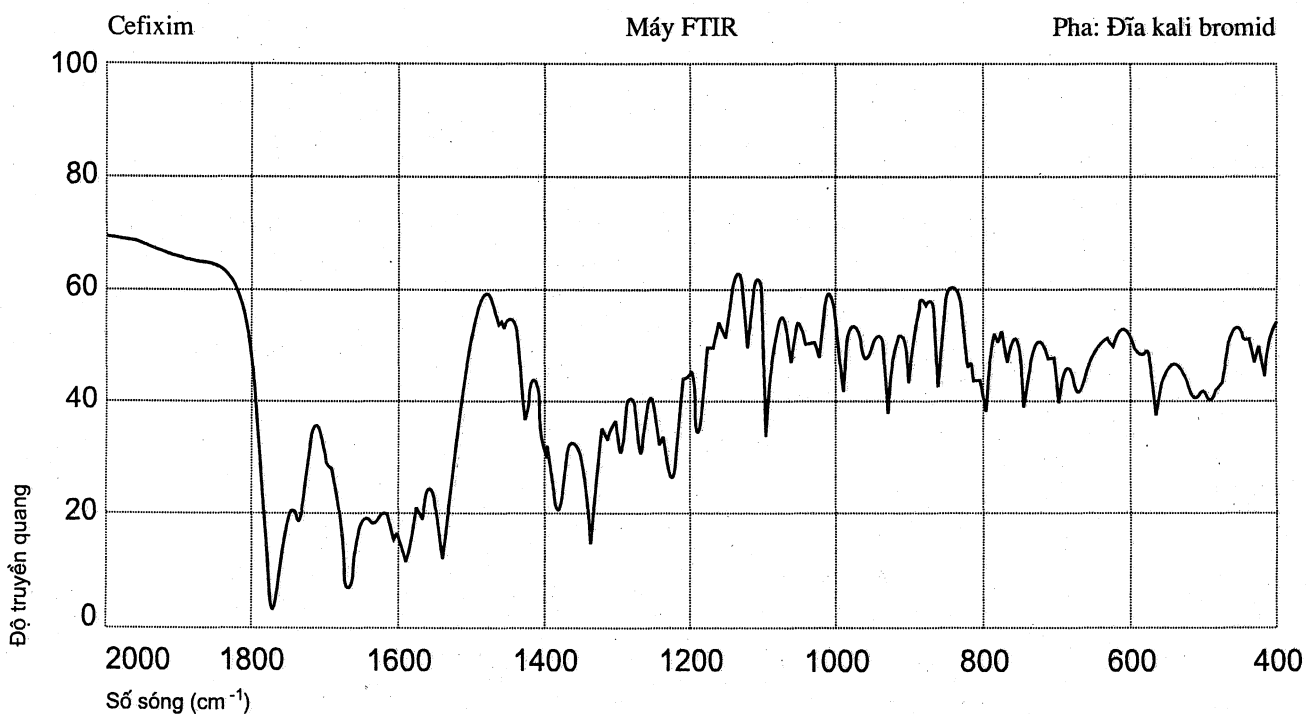
PĐC 033: Bromhexin hydroclorid

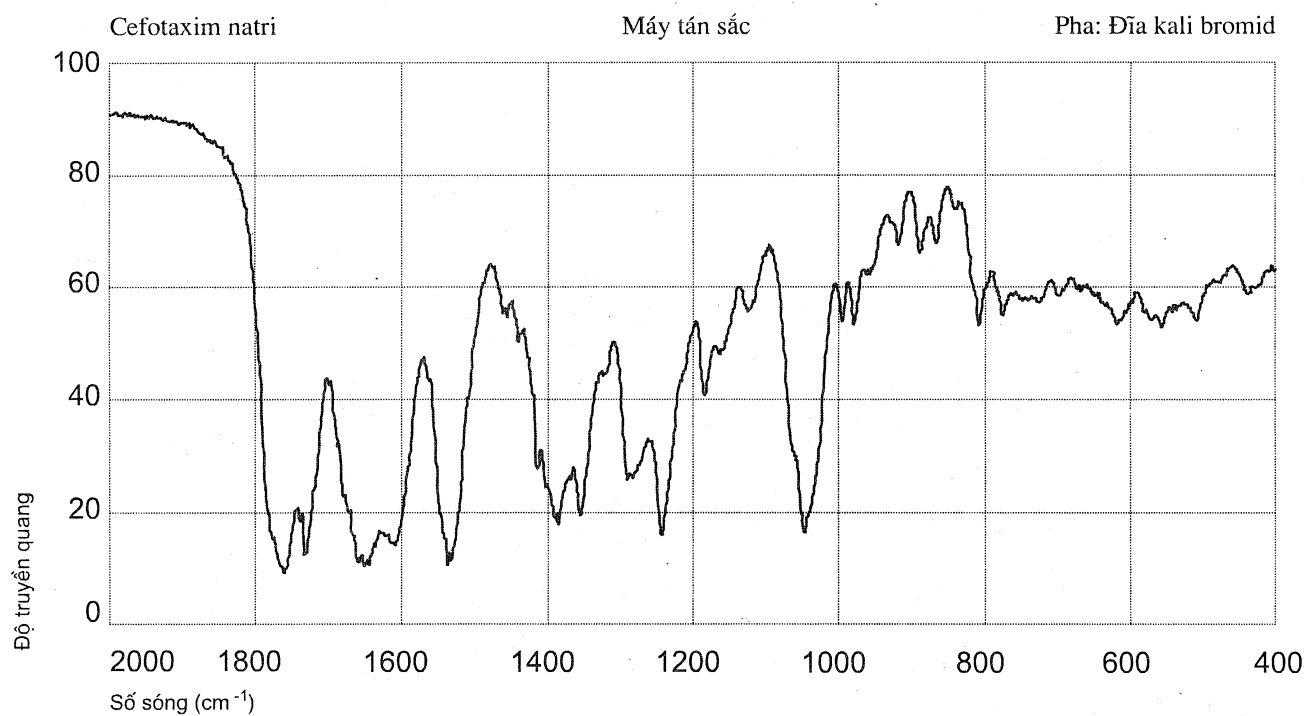
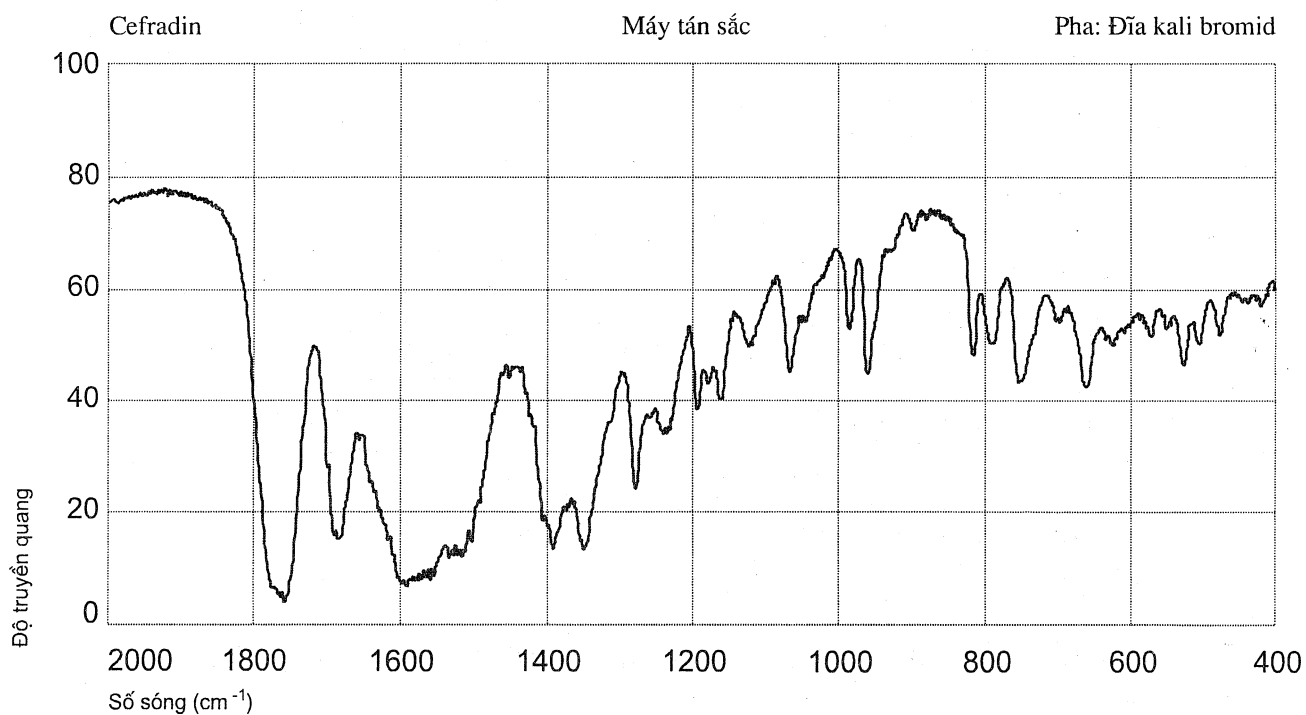


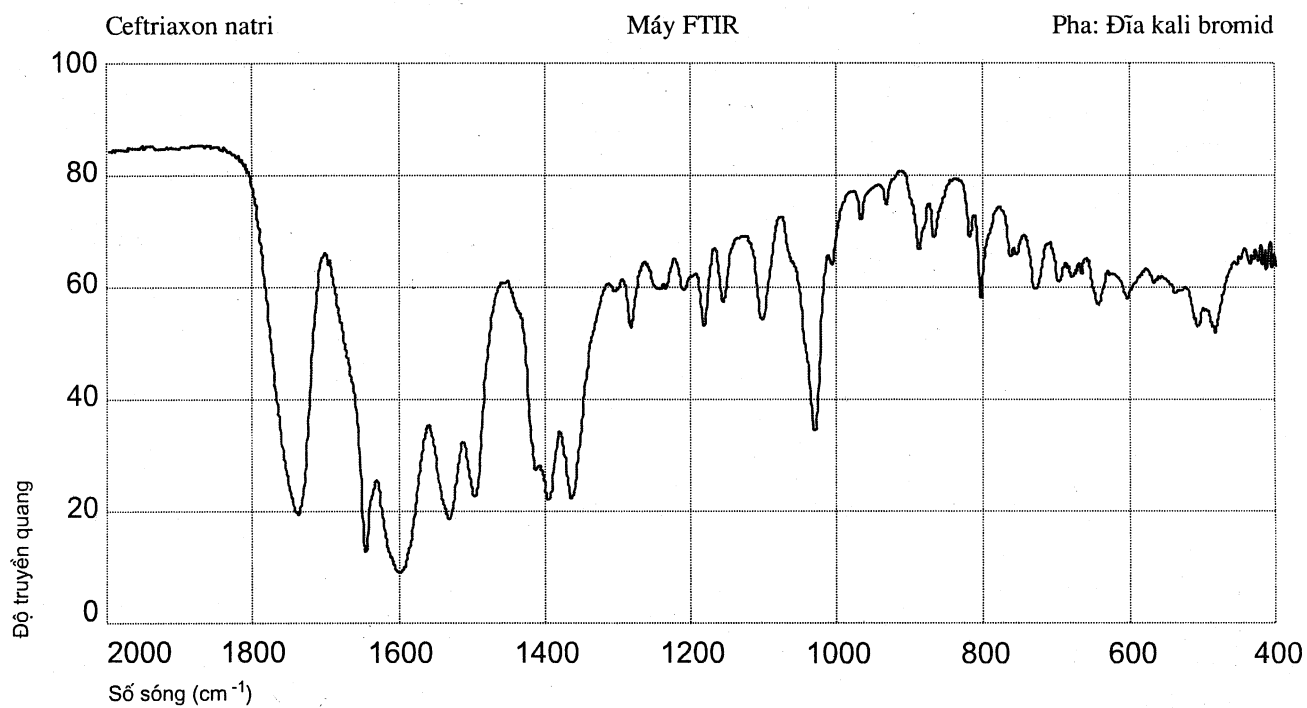
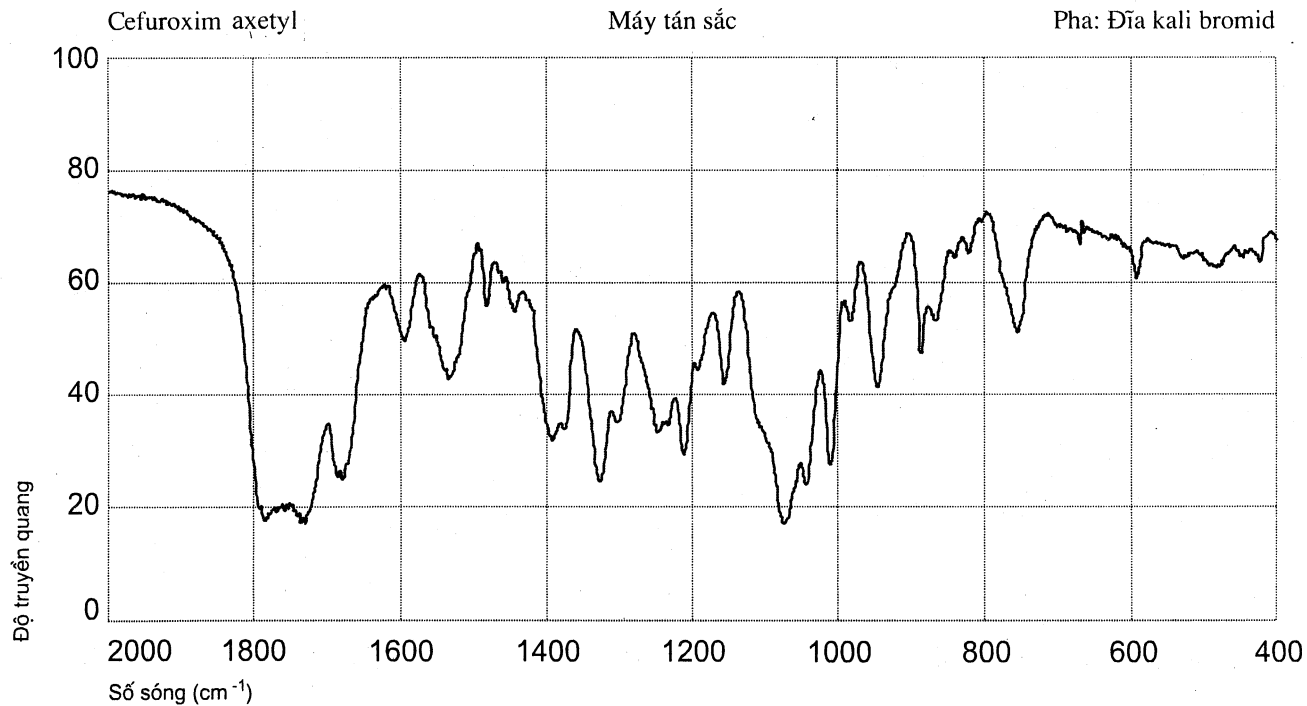
PĐC 034: Cafein khan



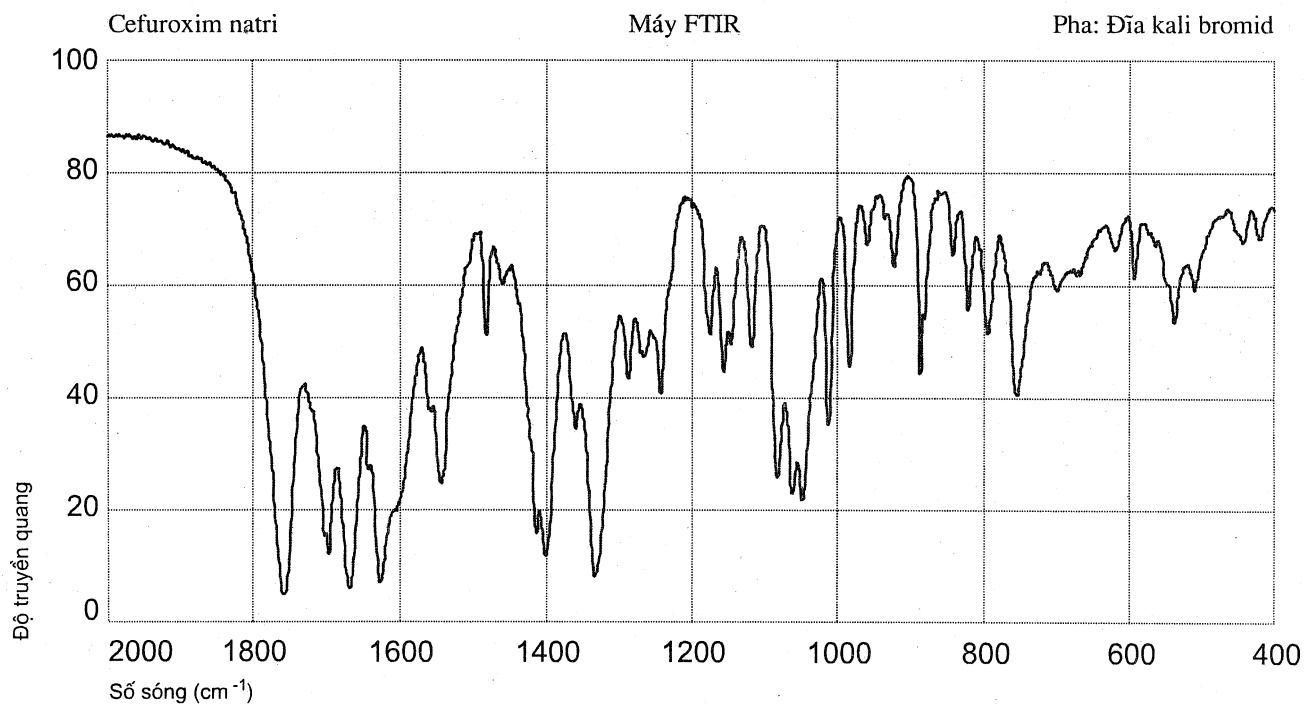
PĐC 035: Captopril**PĐC 036: Carbamazepin**

PĐC 039: Cefazolin natri**PĐC 040: Cefixim**

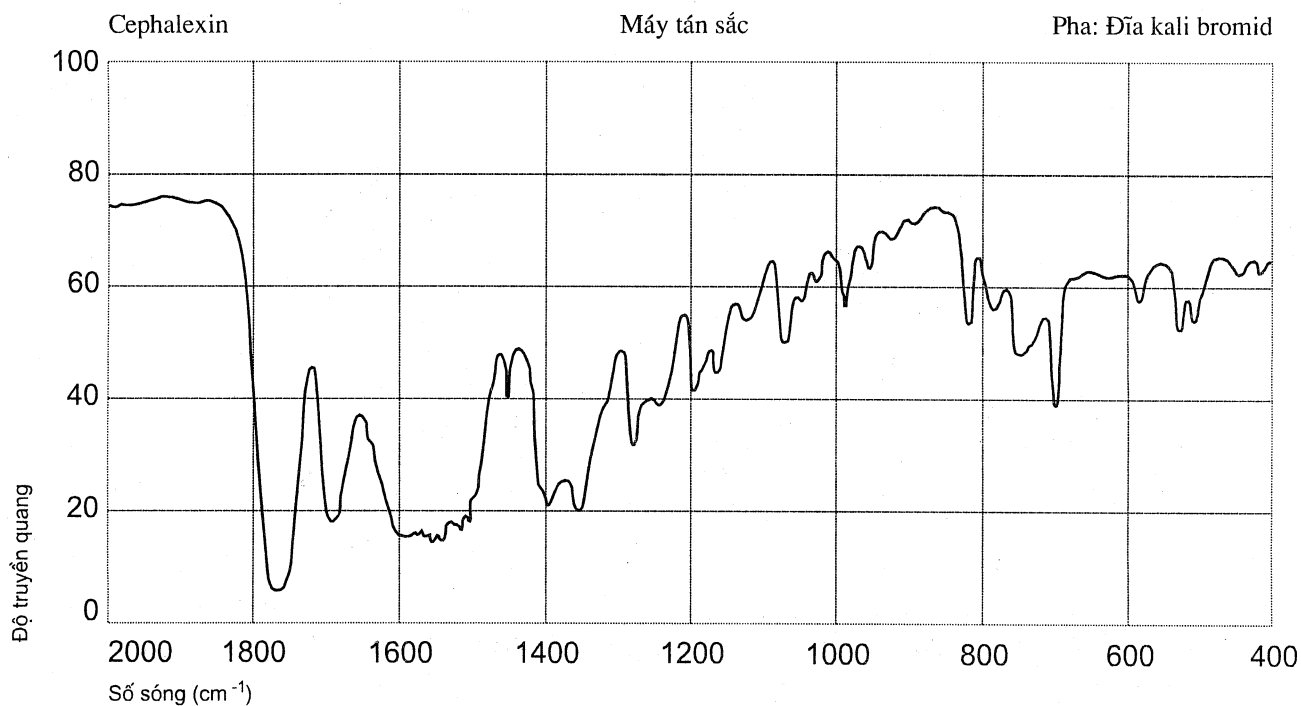
PĐC 041: Cefotaxim natri**PĐC 042: Cefradin**

PĐC 043: Ceftriaxon natri**PĐC 044: Cefuroxim axetyl**

PĐC 045: Cefuroxim natri



PĐC 046: Cephalixin

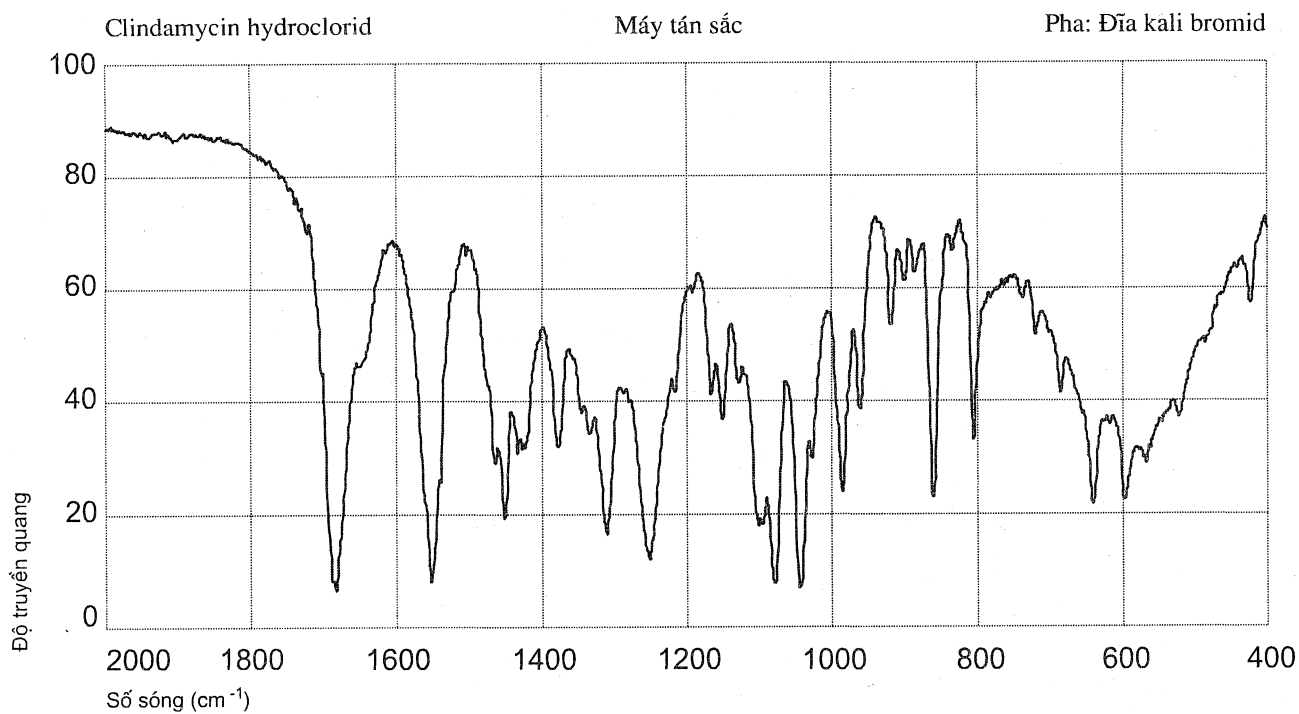


Ciprofloxacin hydroclorid Máy FTIR Pha: Đĩa kali bromid

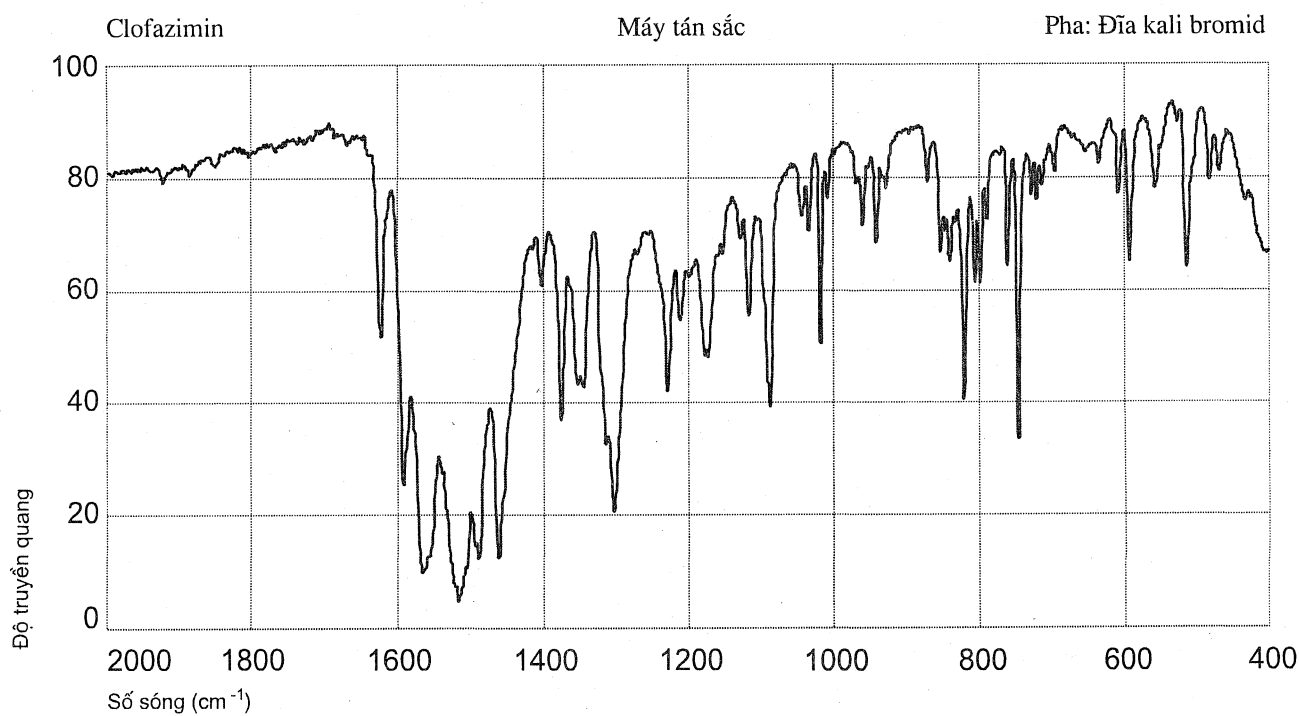
Độ truyền quang

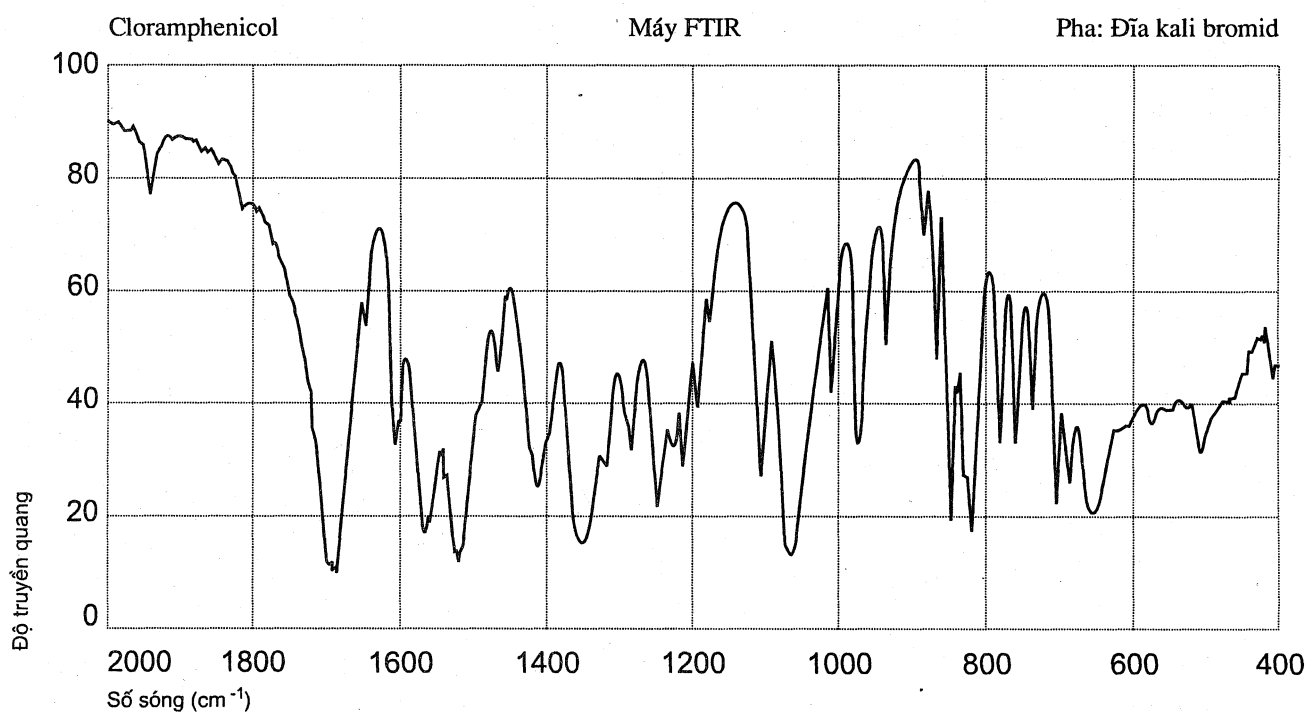
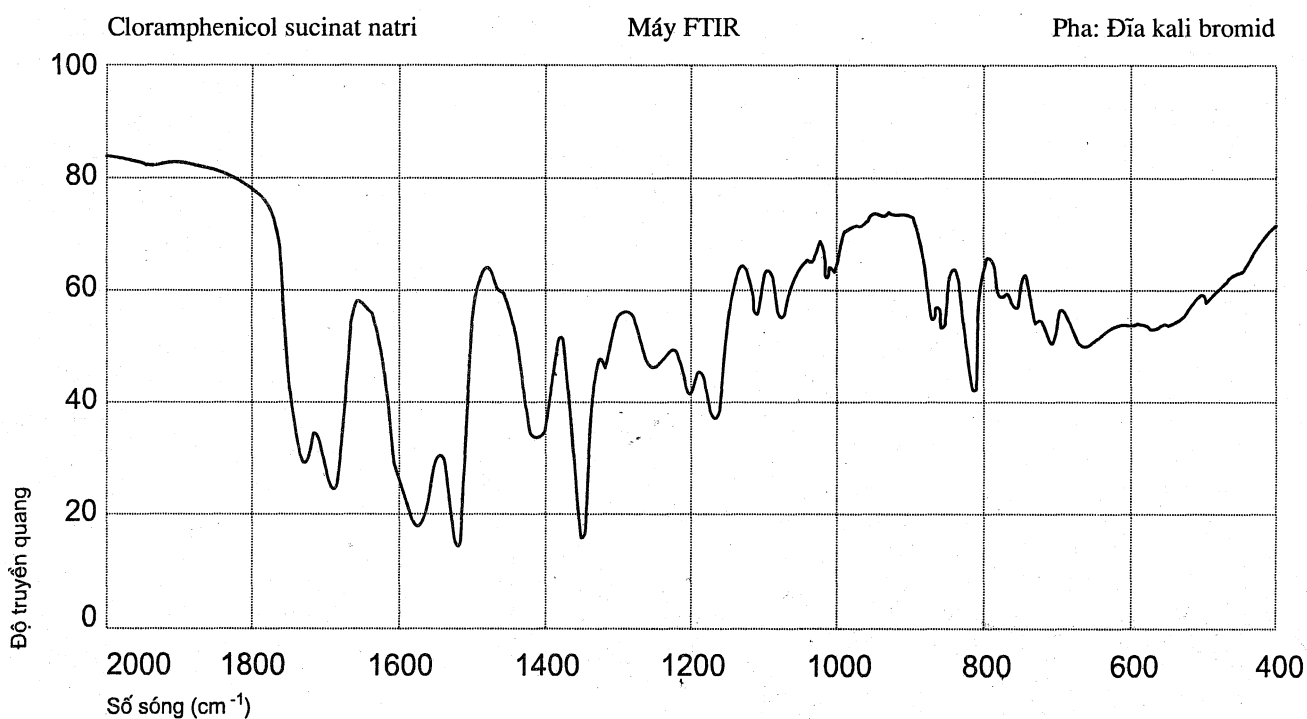
Số sóng (cm^{-1})

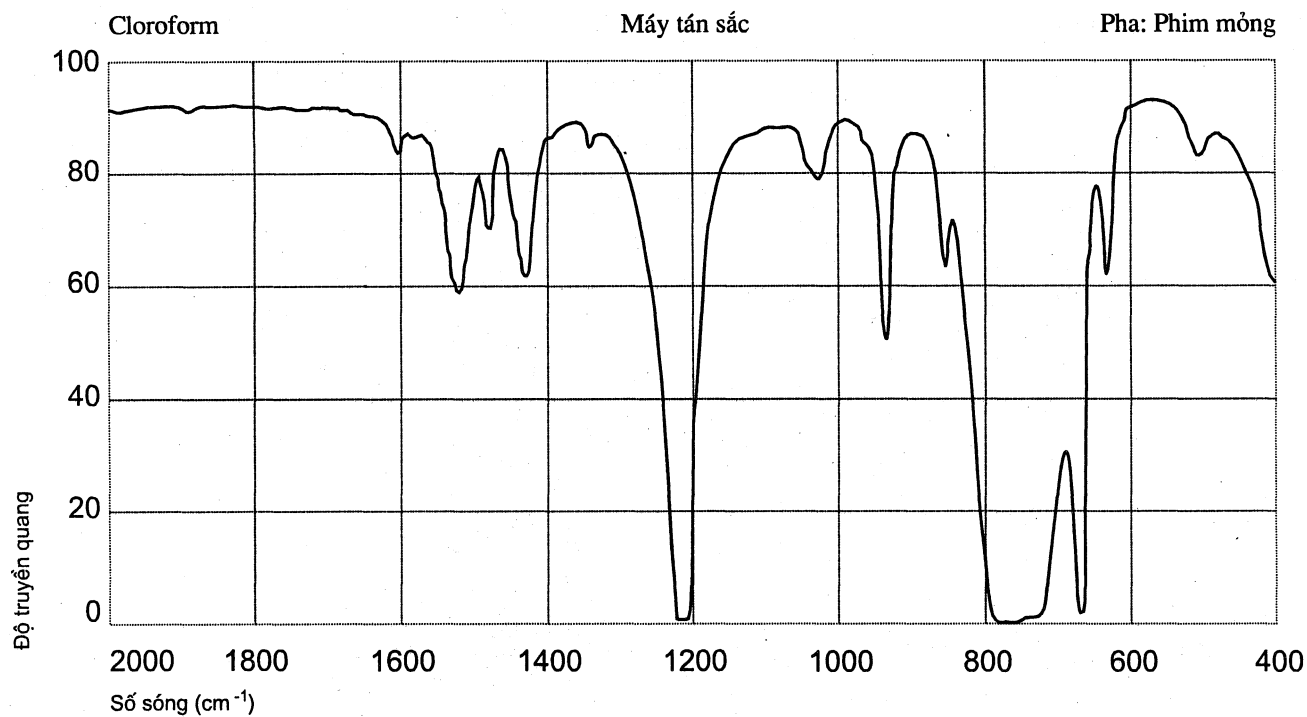
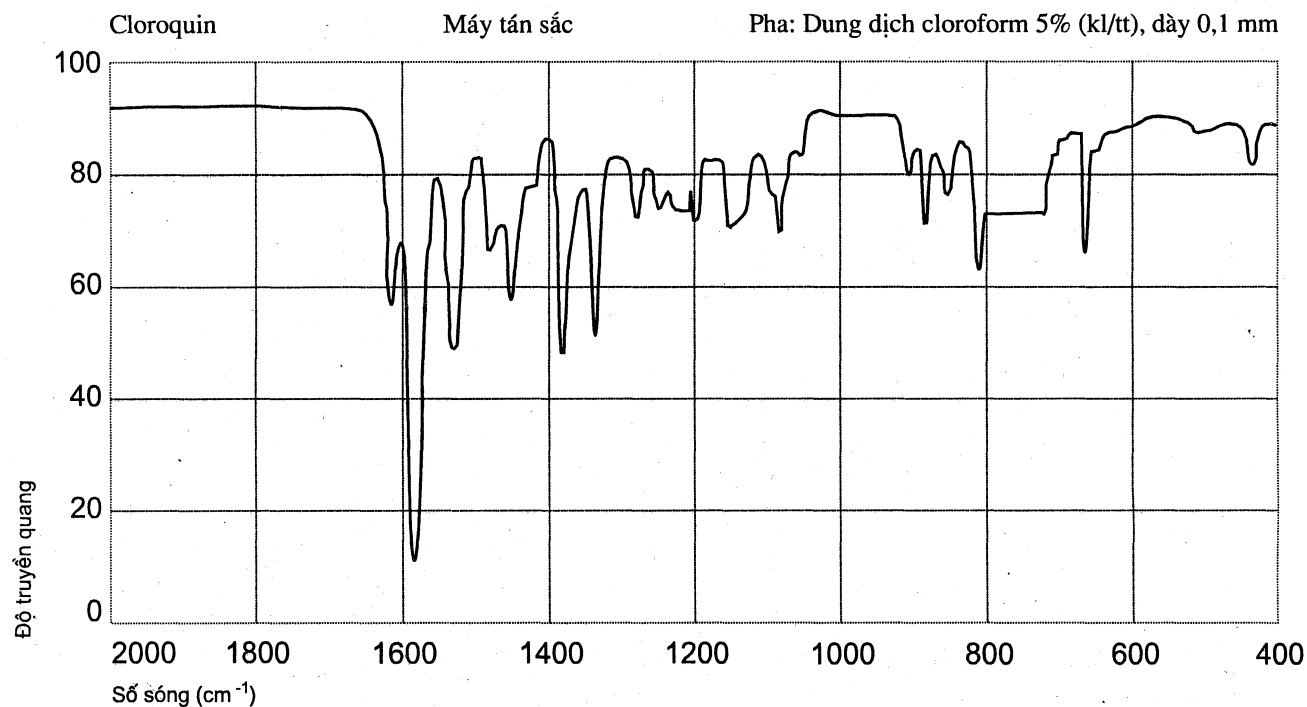
PĐC 049: Clindamycin hydroclorid

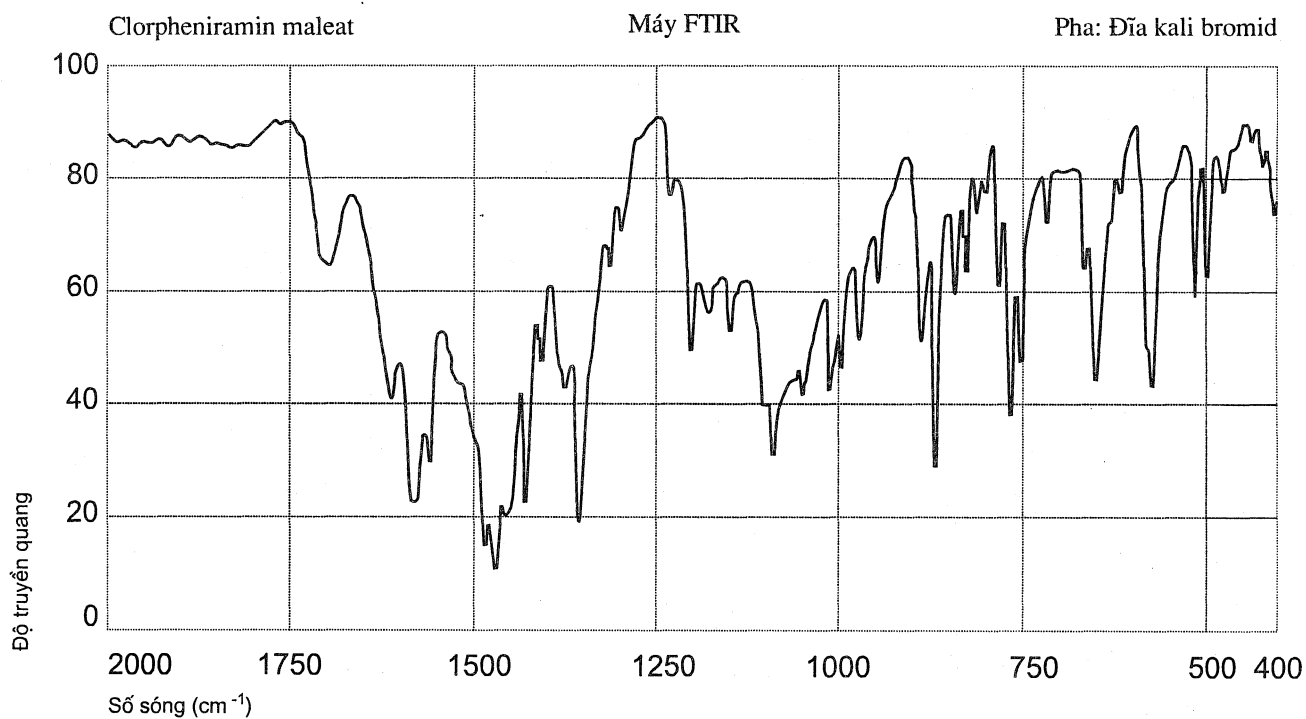
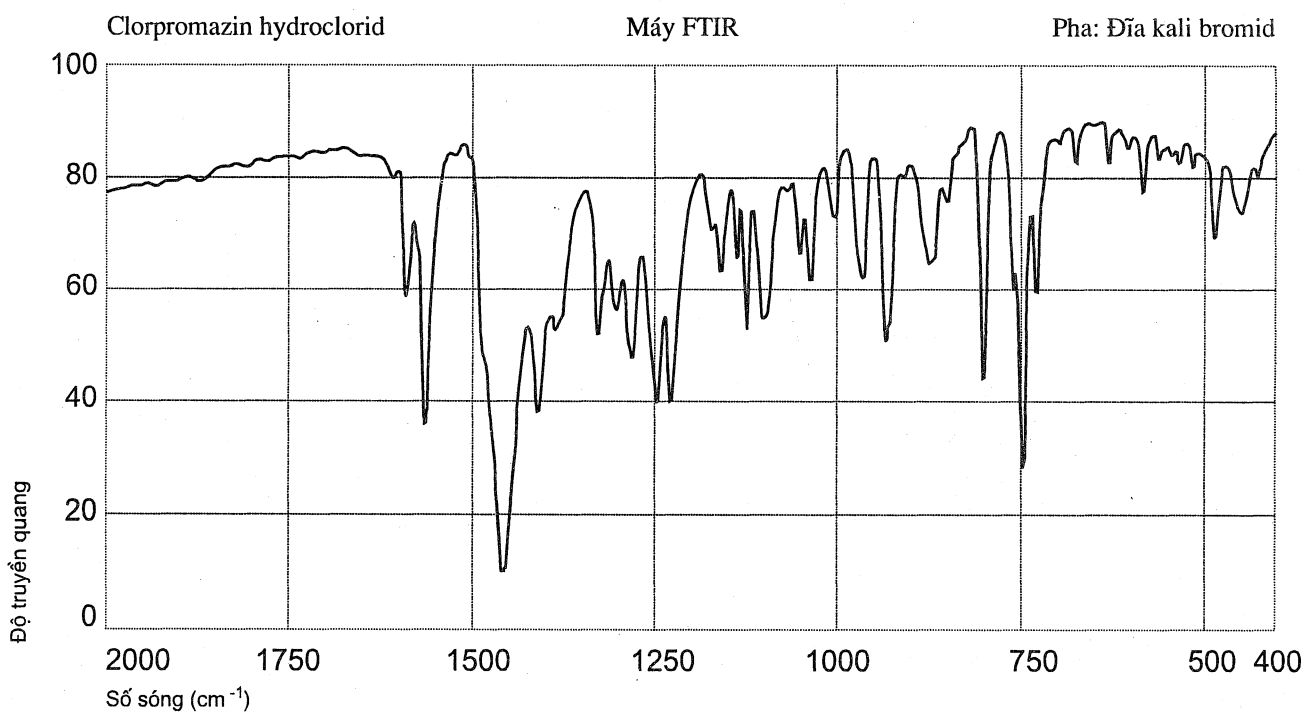


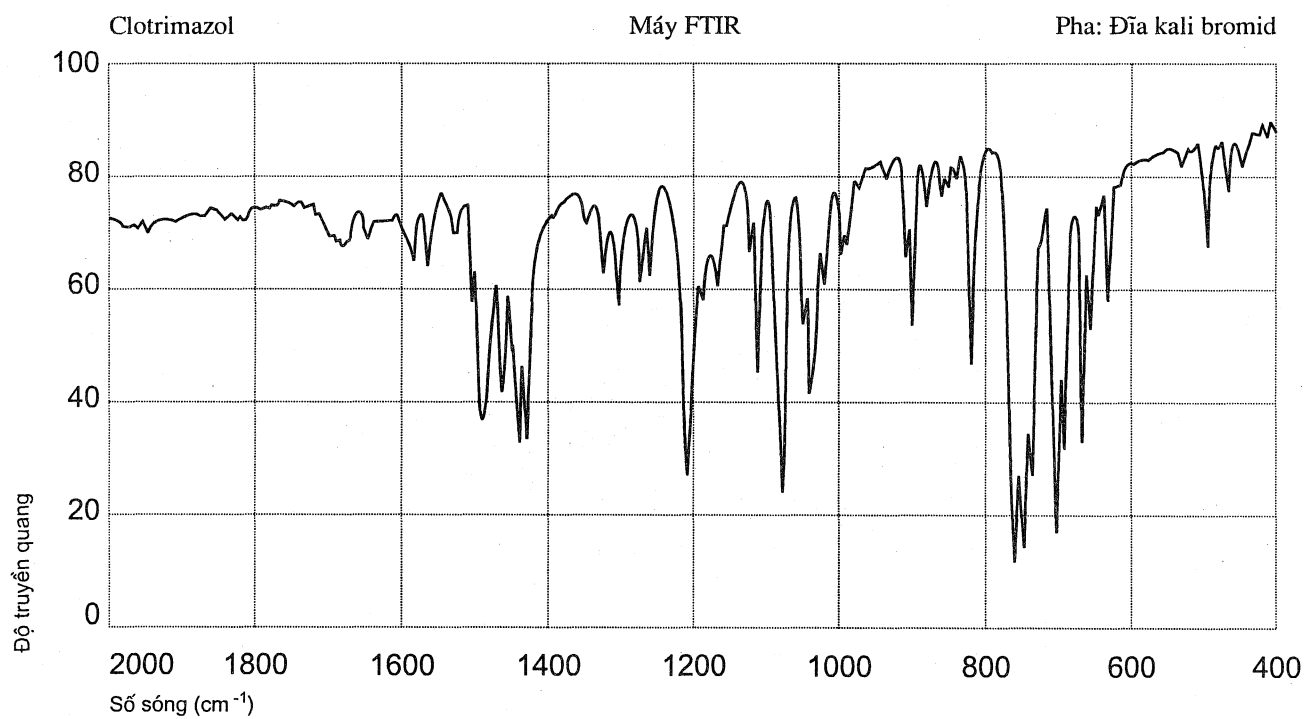
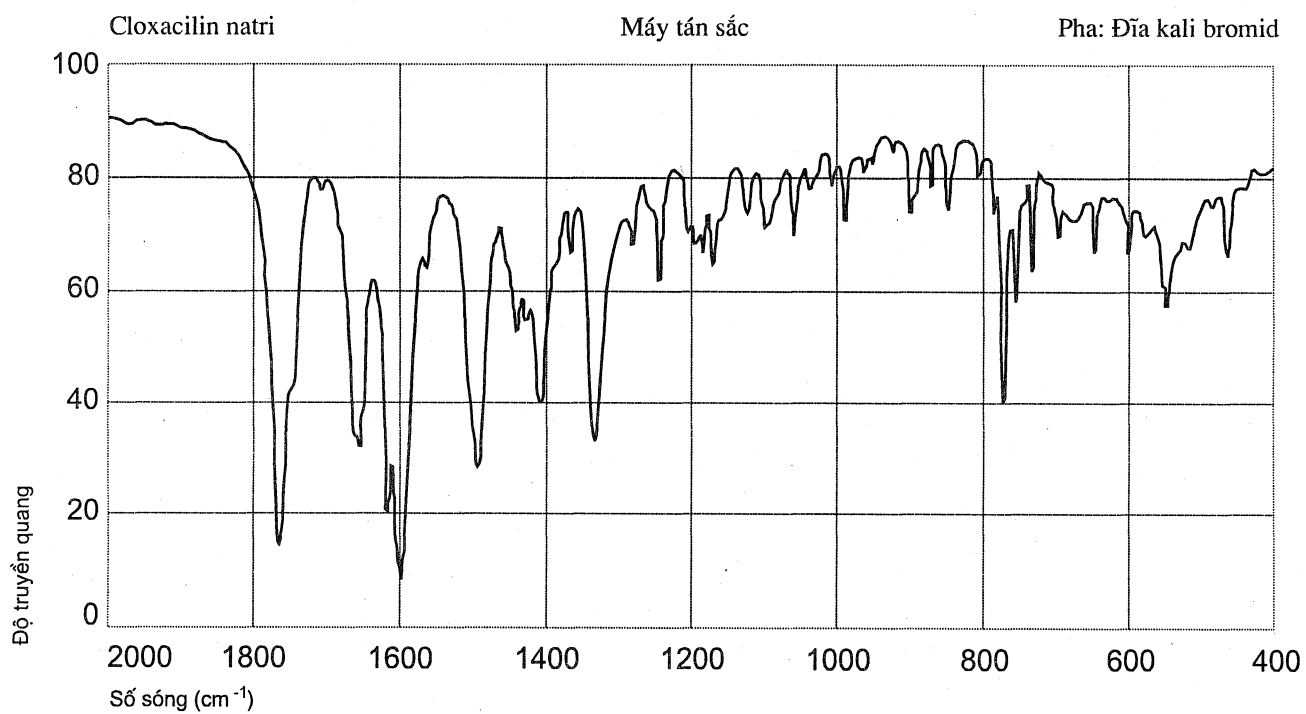
PĐC 050: Clofazimin

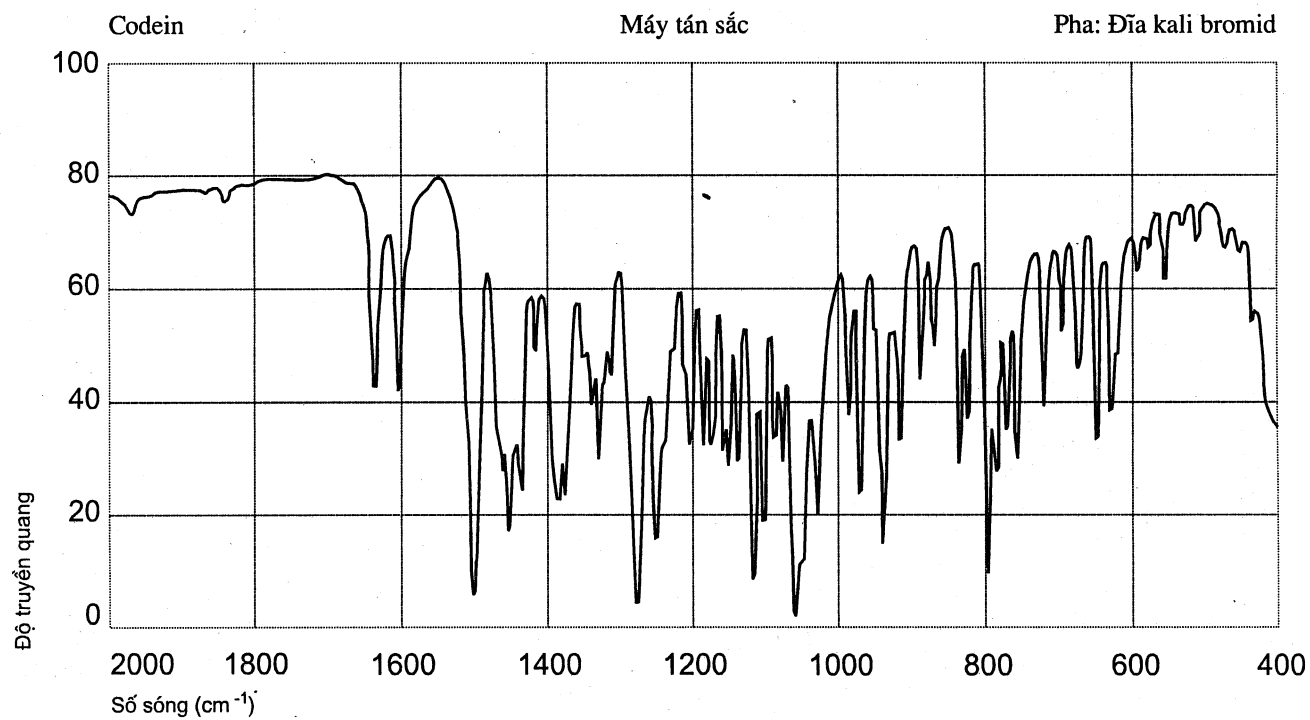
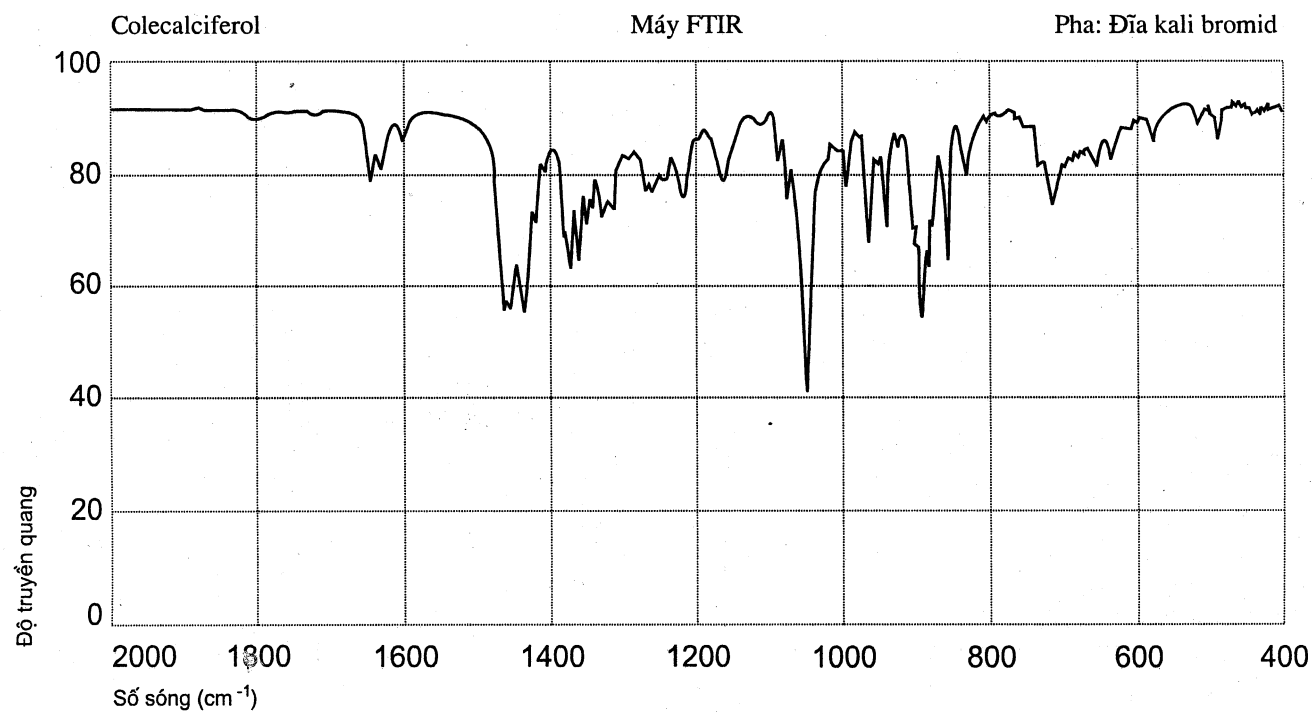


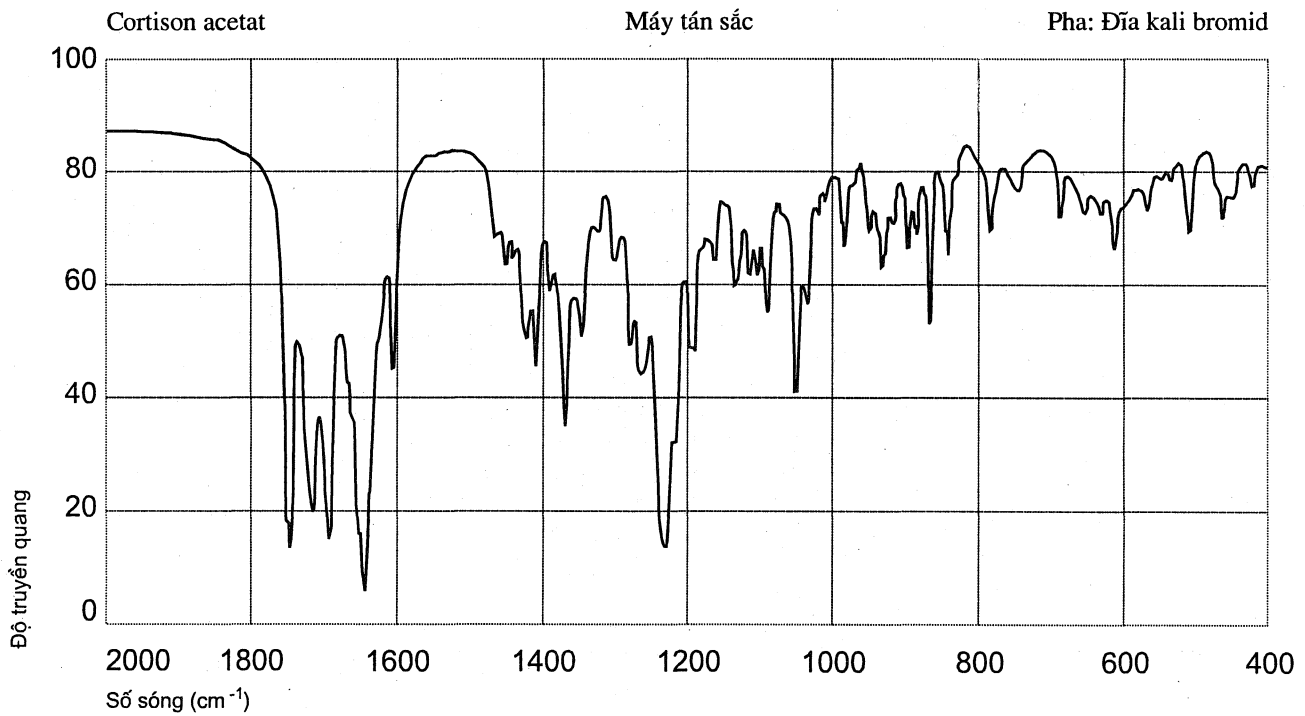
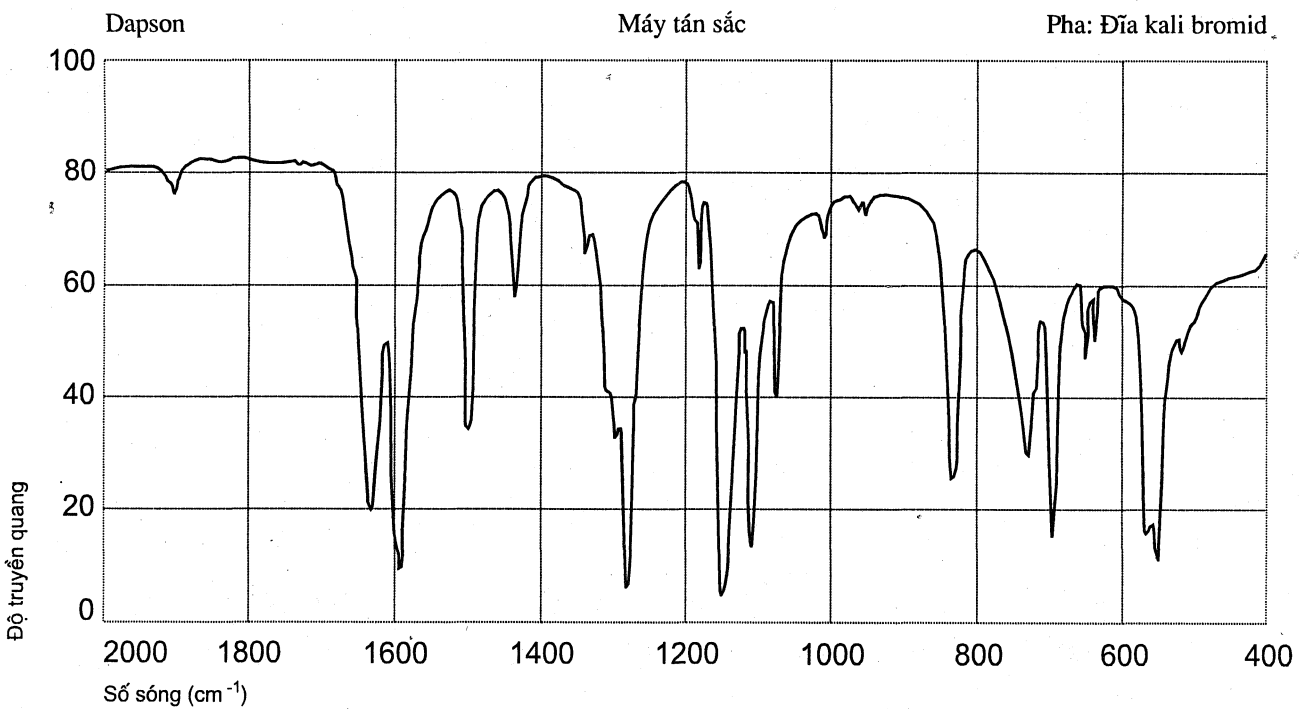
PĐC 051: Cloramphenicol**PĐC 052: Cloramphenicol succinat natri**

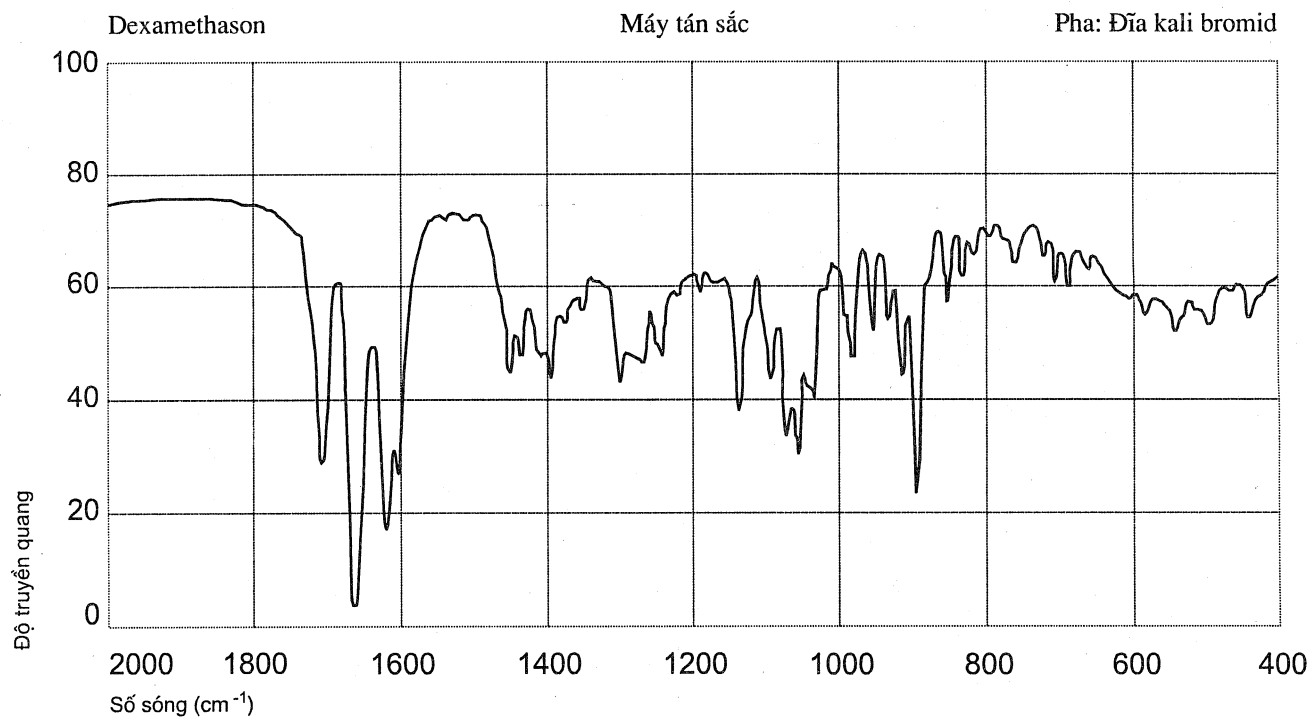
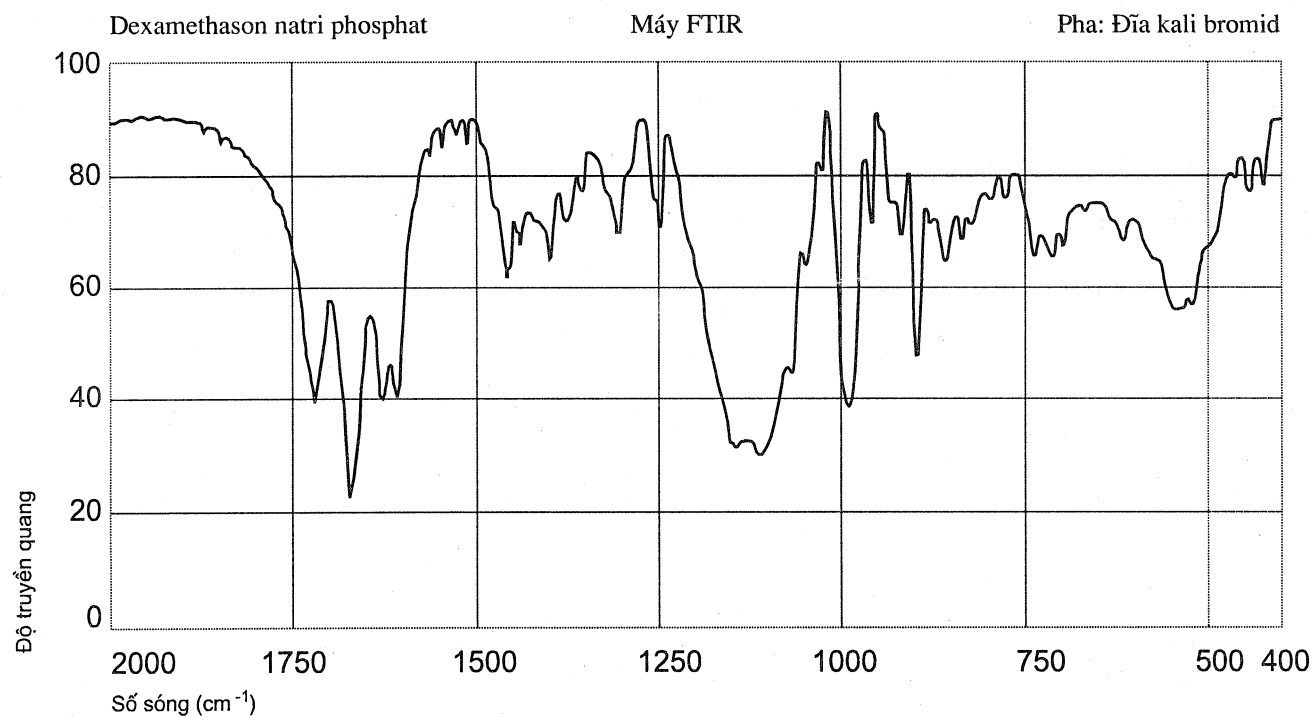
PĐC 053: Cloroform**PĐC 054: Cloroquin**

PĐC 055: Clorpheniramin maleat**PĐC 056: Clorpromazin hydroclorid**

PĐC 057: Clotrimazol**PĐC 058: Cloxacilin natri**

PĐC 059: Codein**PĐC 060: Colecalciferol**

PĐC 061: Cortison acetat**PĐC 062: Dapson**

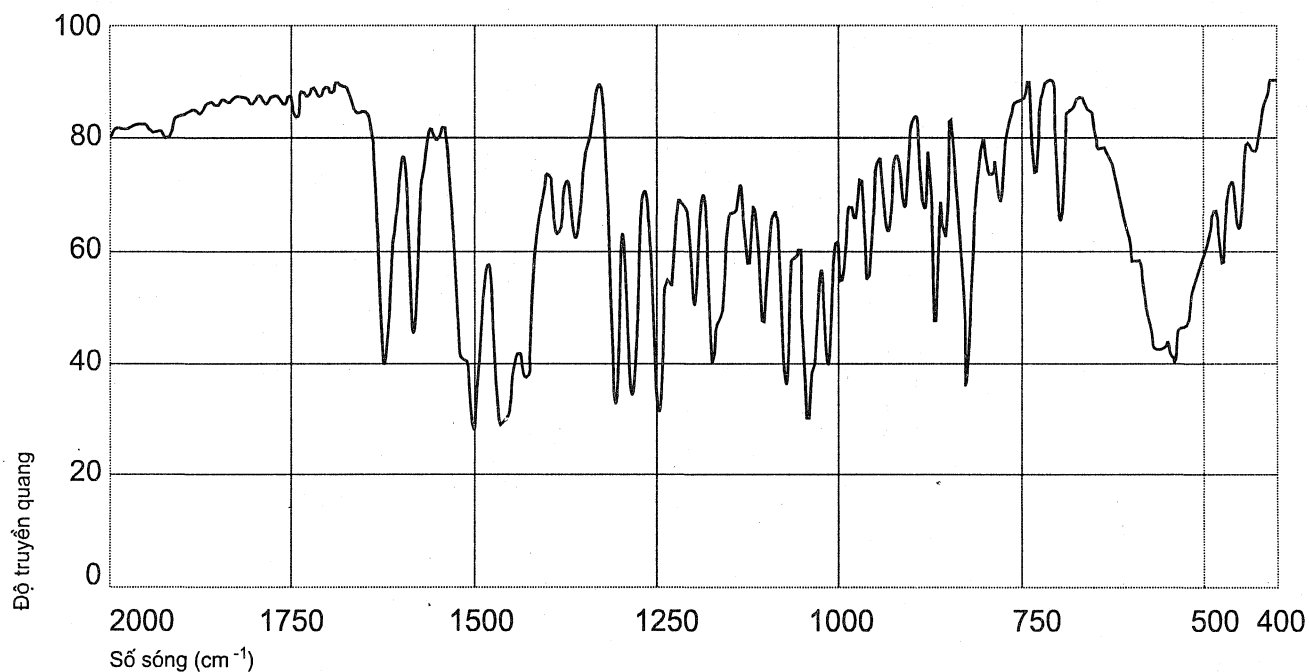
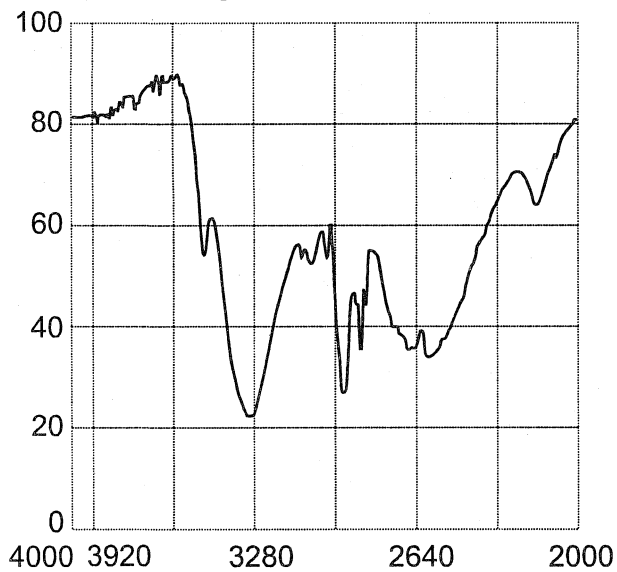
PĐC 063: Dexamethason**PĐC 064: Dexamethason natri phosphat**

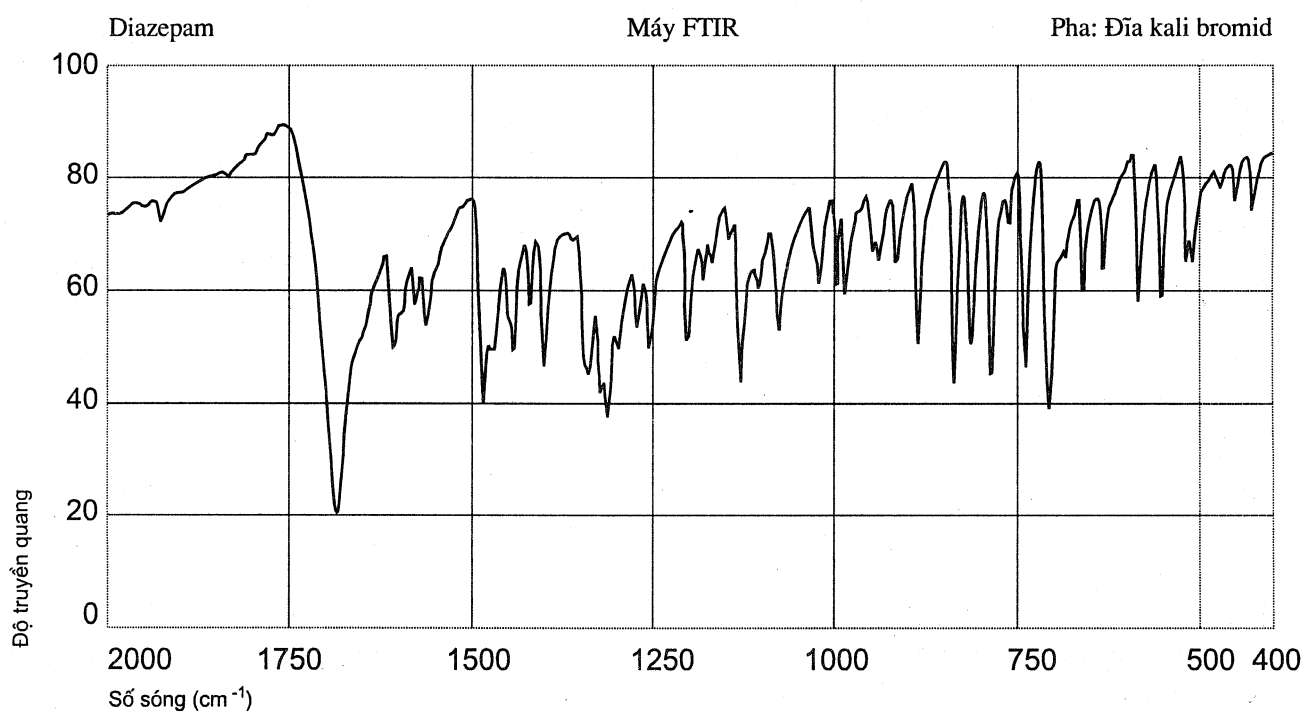
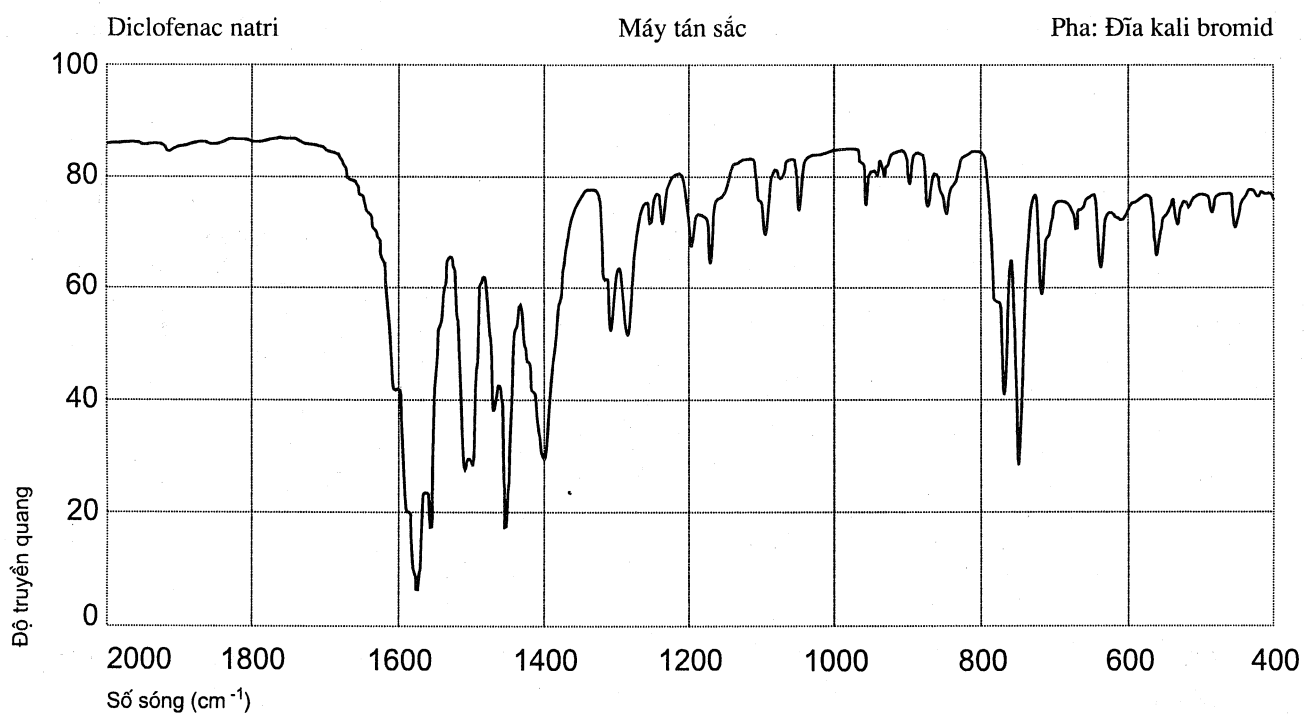
PĐC 065: Dextromethorphan hydrobromid

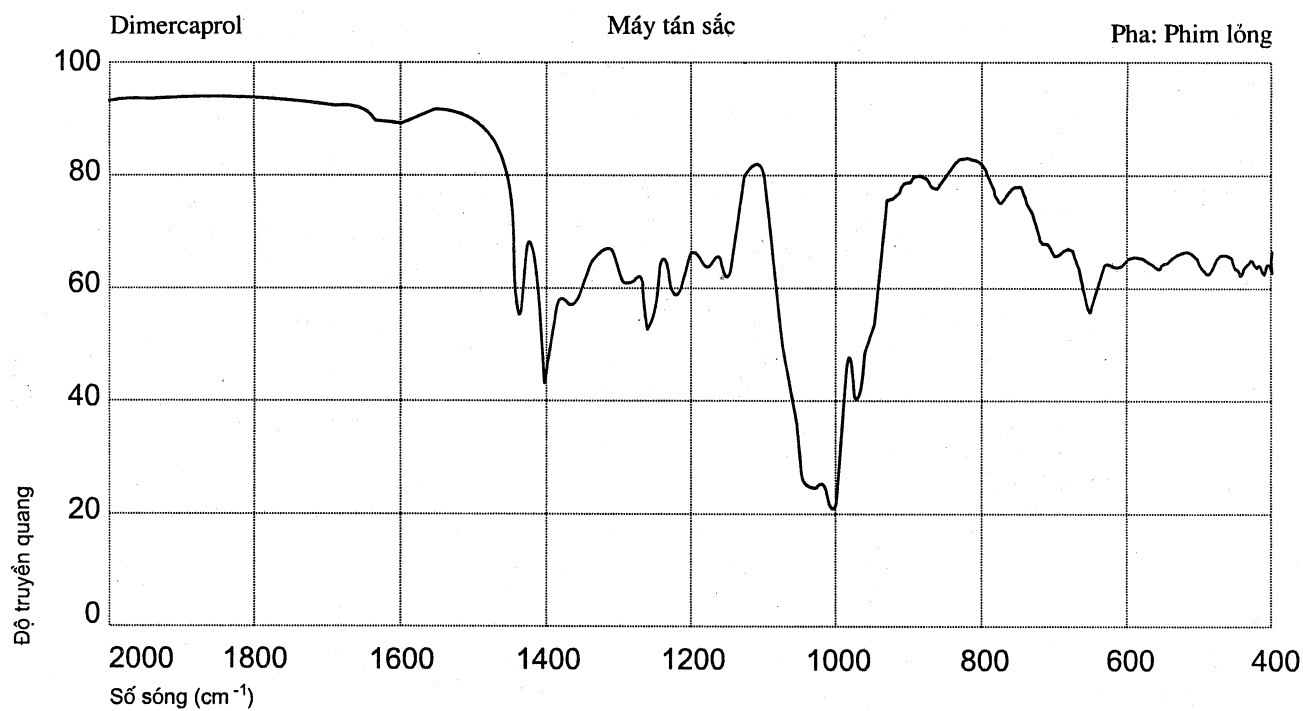
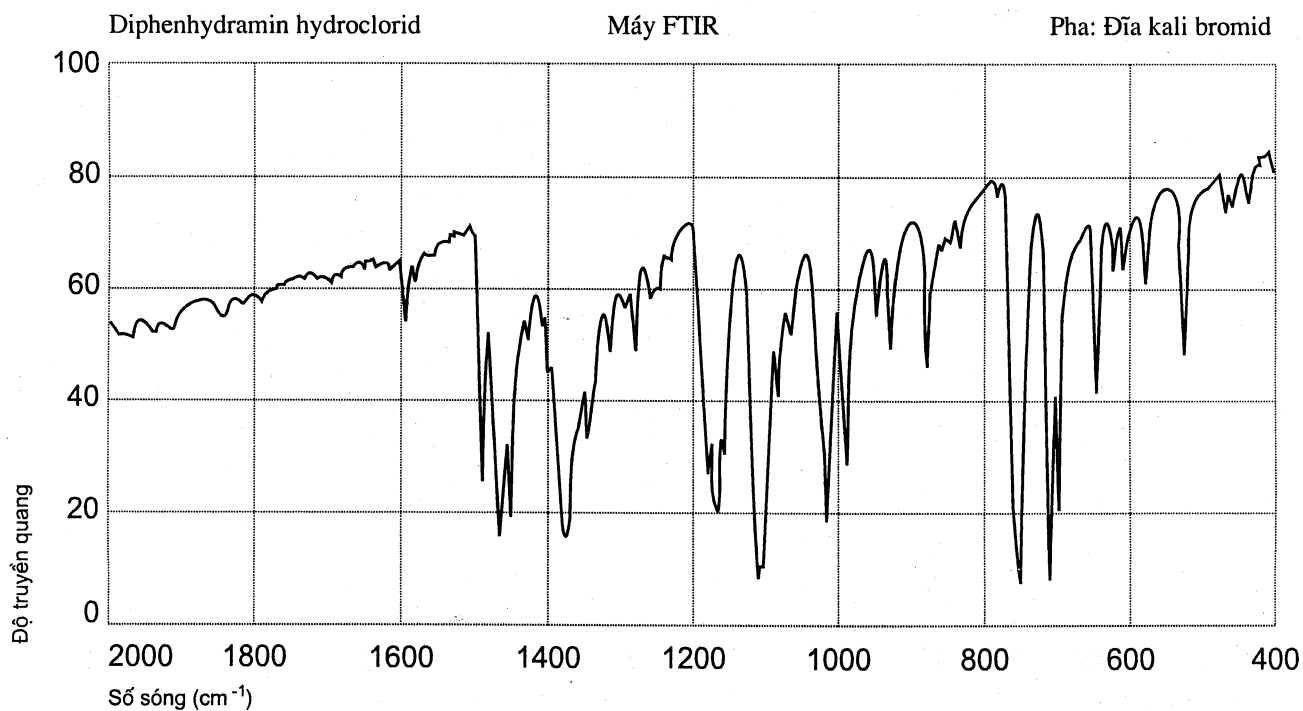
Dextromethorphan hydrobromid

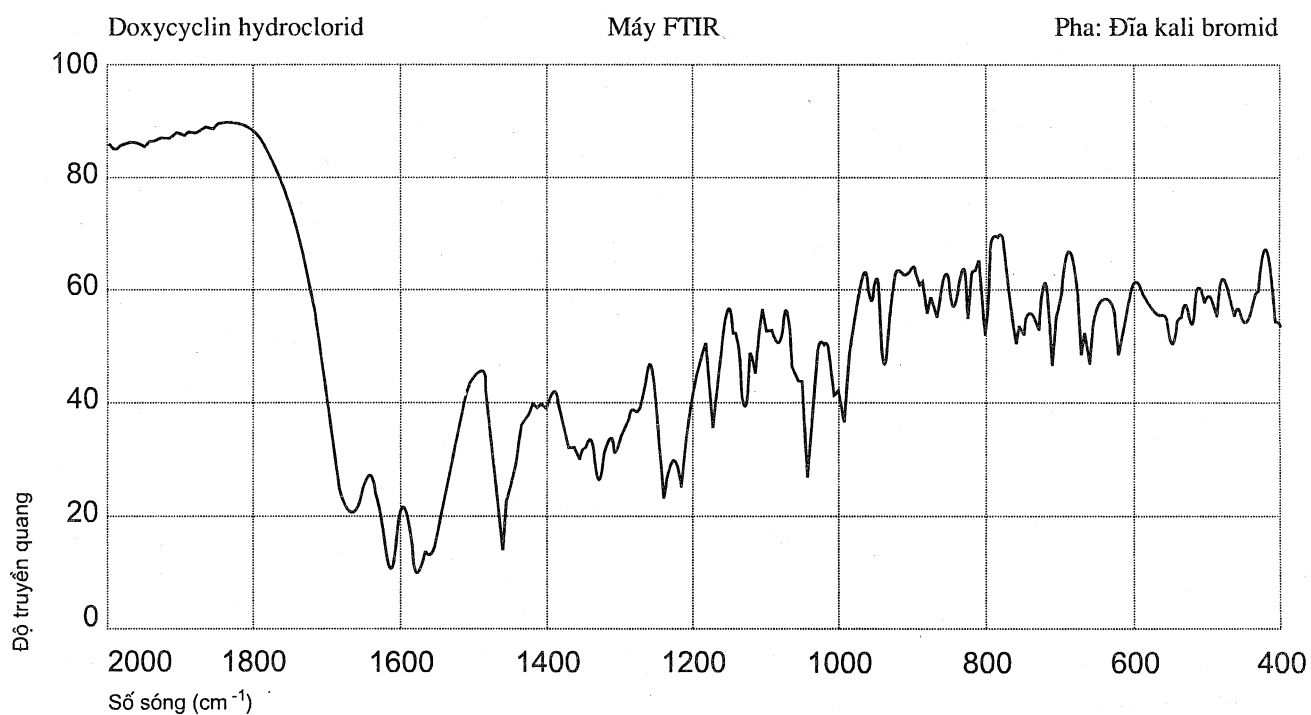
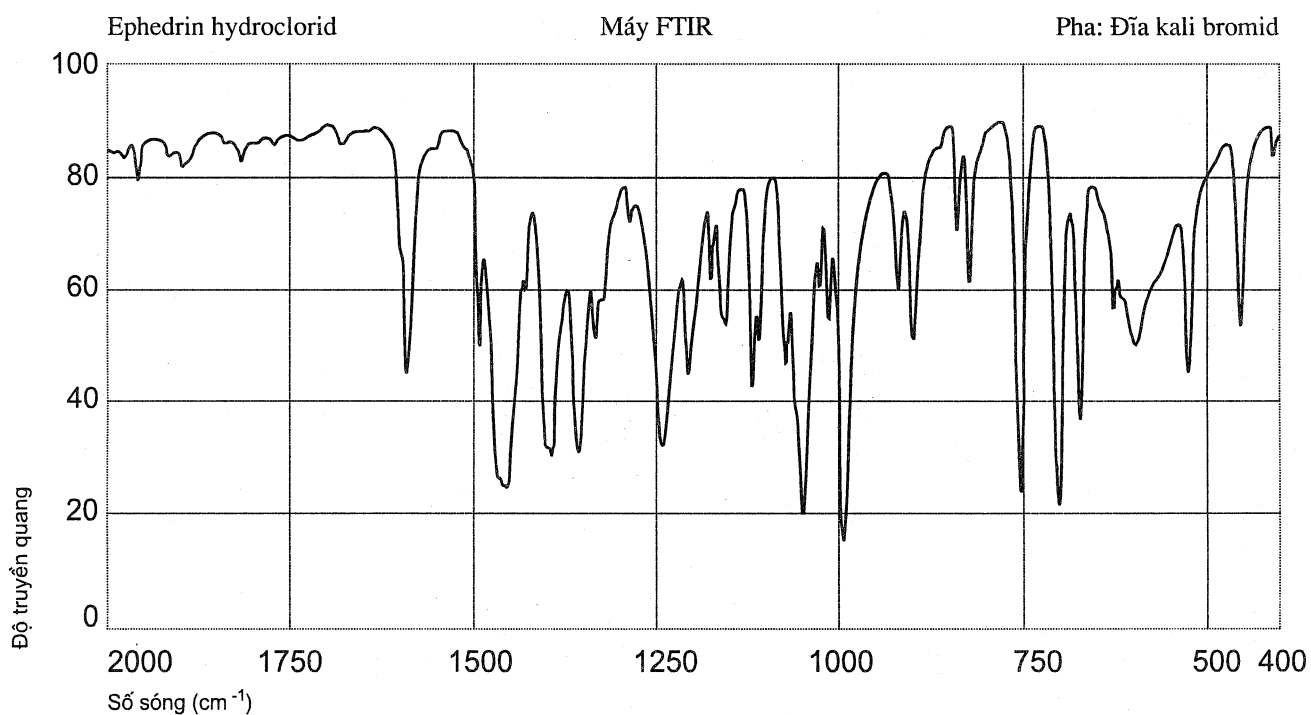
Máy FTIR

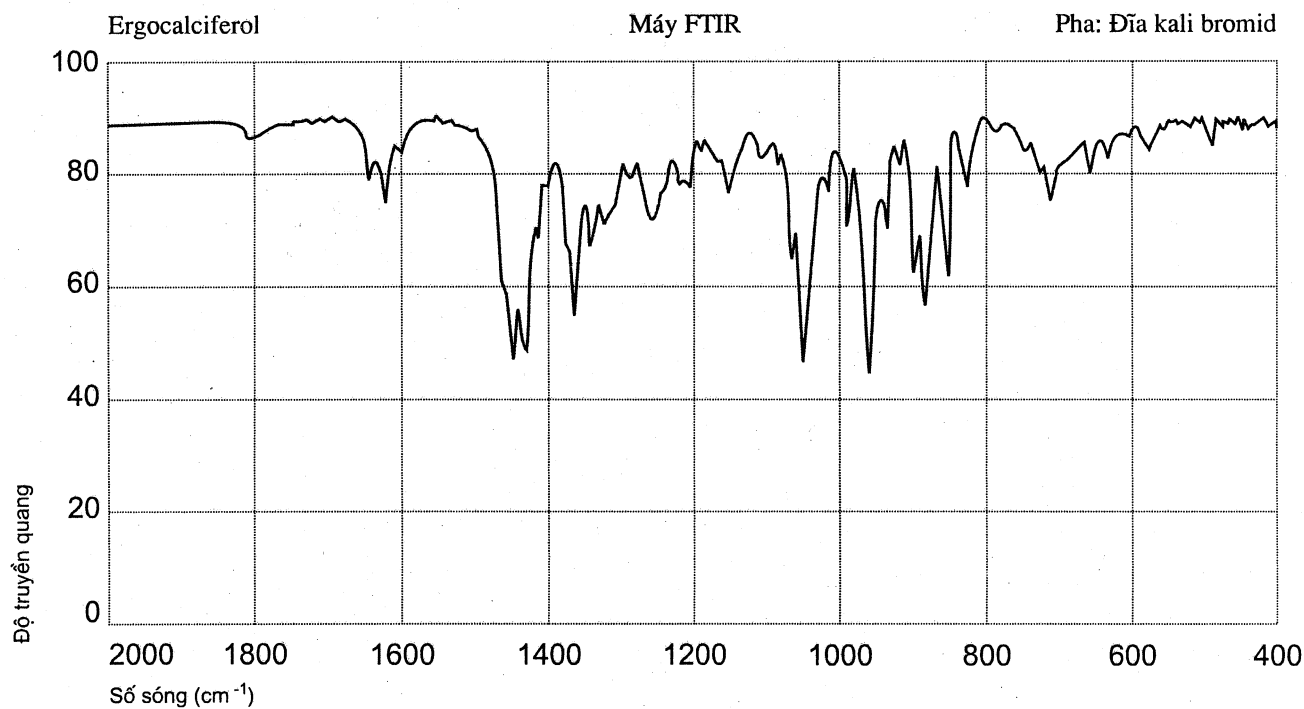
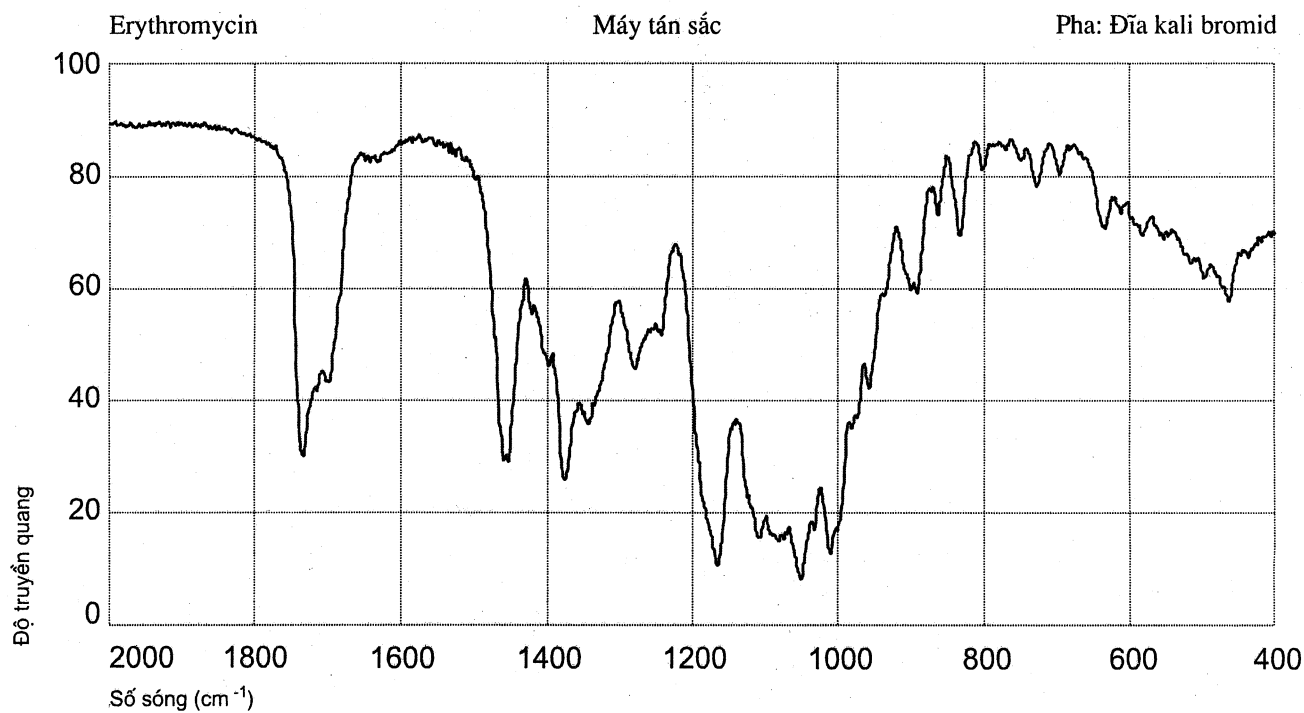
Pha: Đĩa kali bromid

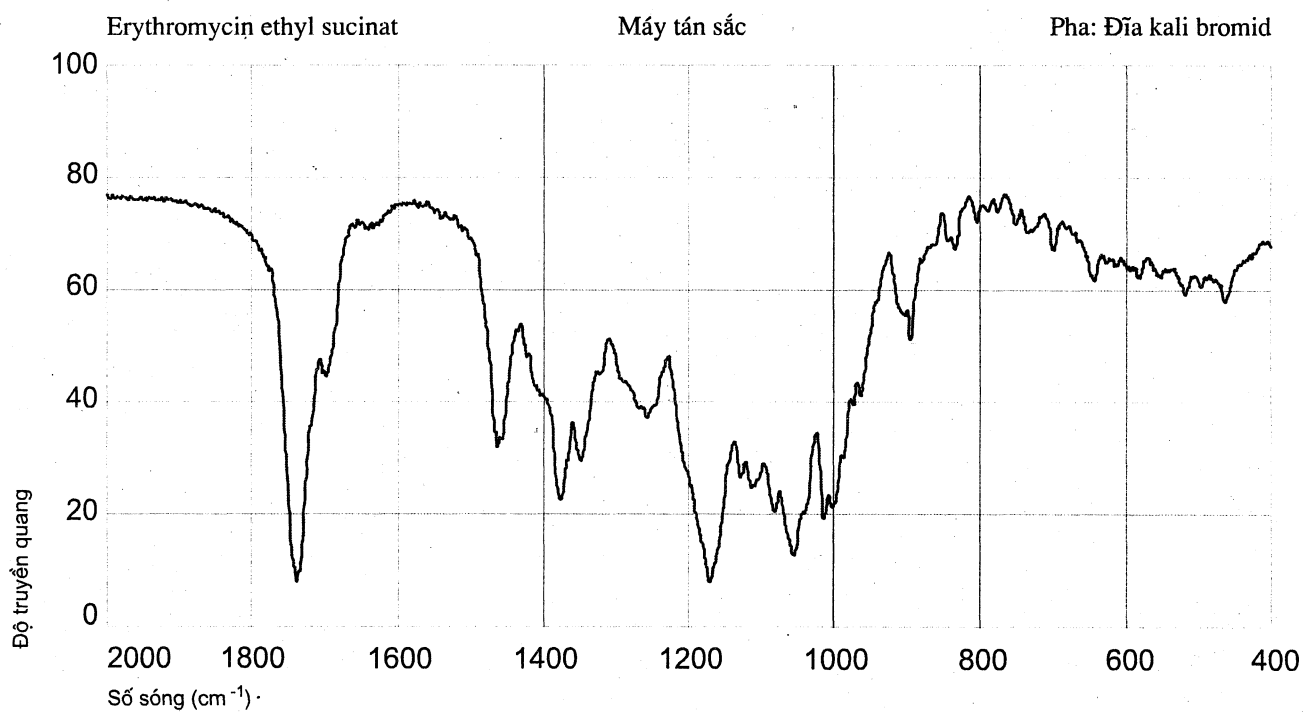
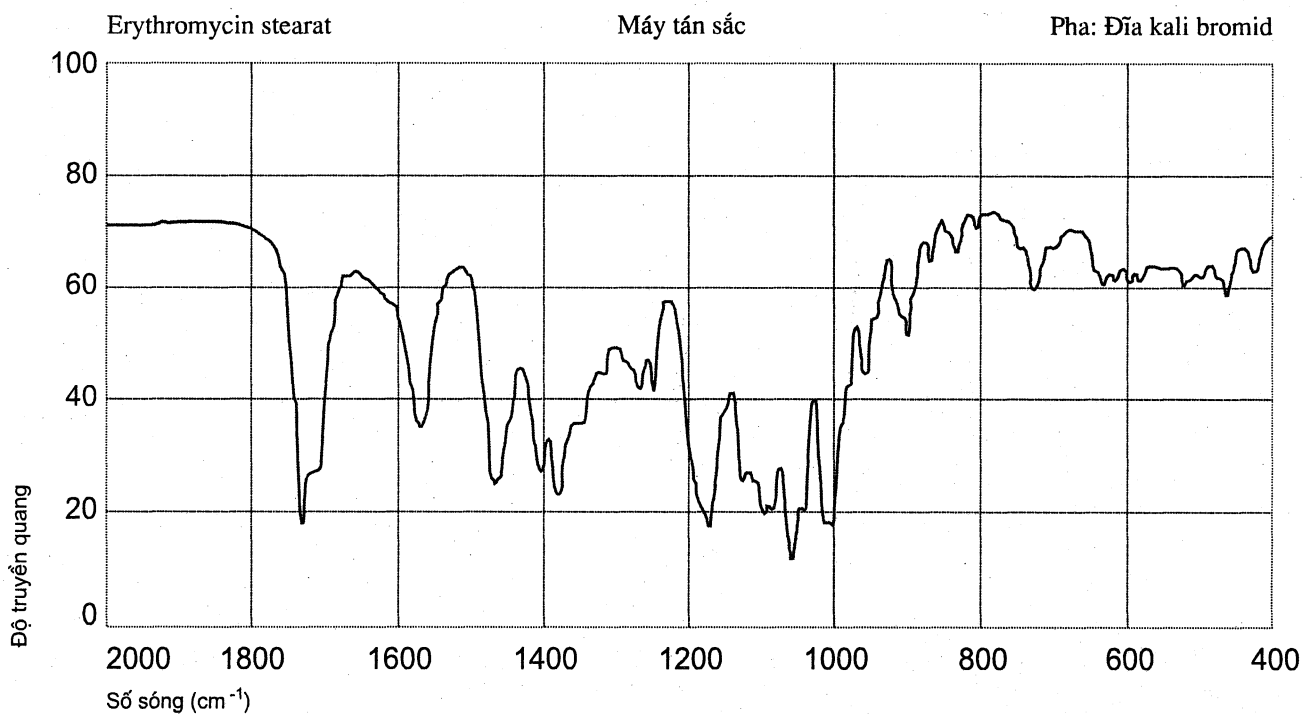


PĐC 066: Diazepam**PĐC 067: Diclofenac natri**

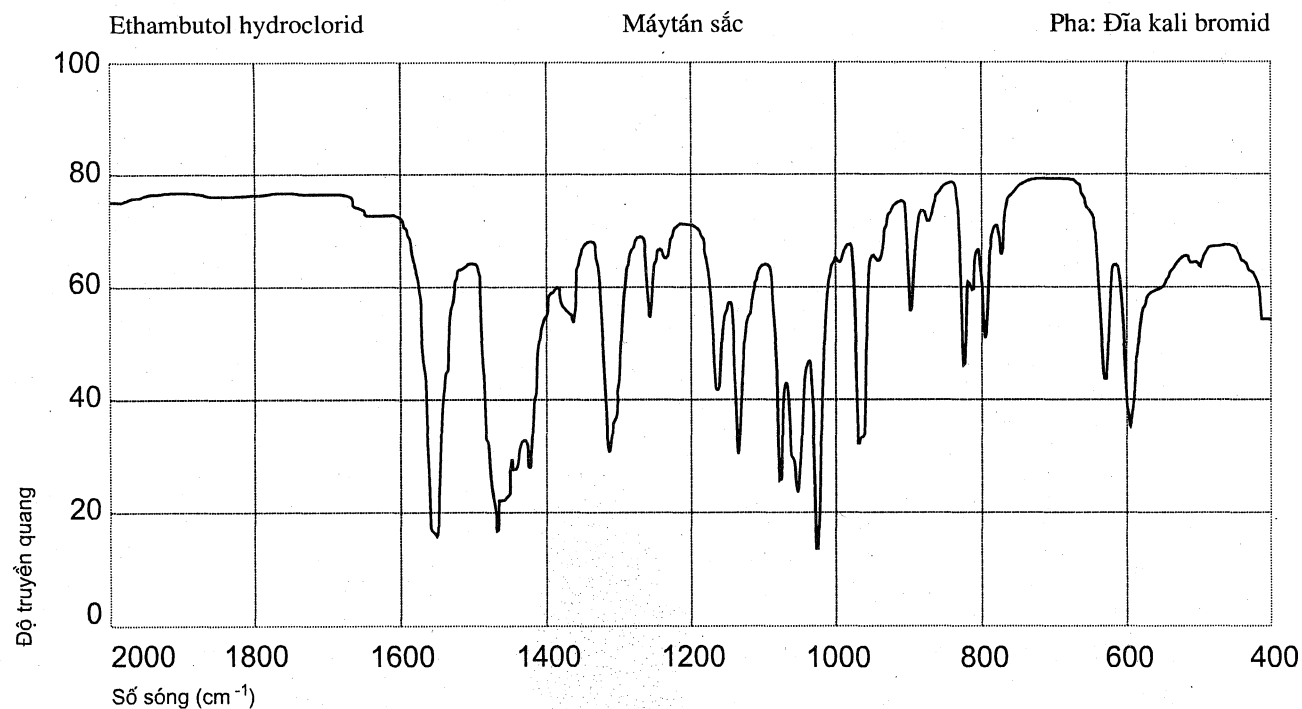
PĐC 068: Dimercaprol**PĐC 069: Diphenhydramin hydroclorid**

PĐC 070: Doxycyclin hydroclorid**PĐC 071: Ephedrin hydroclorid**

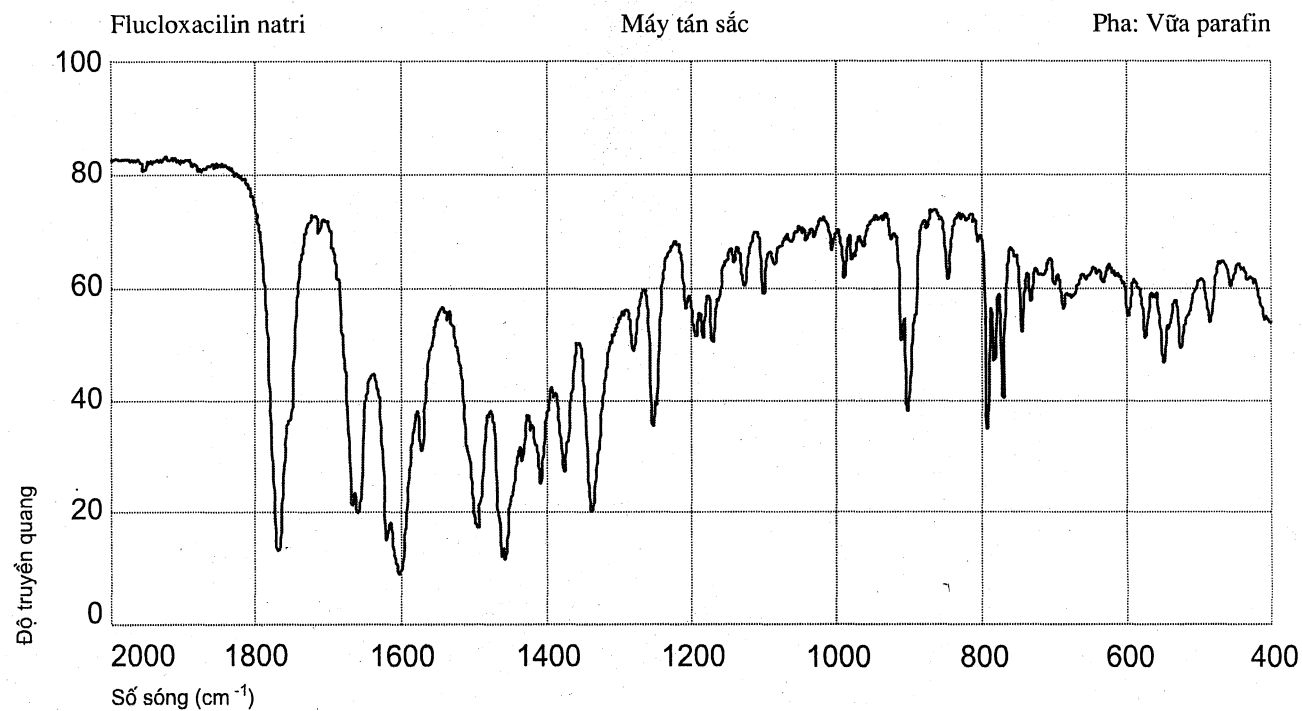
PĐC 072: Ergocalciferol**PĐC 073. Erythromycin**

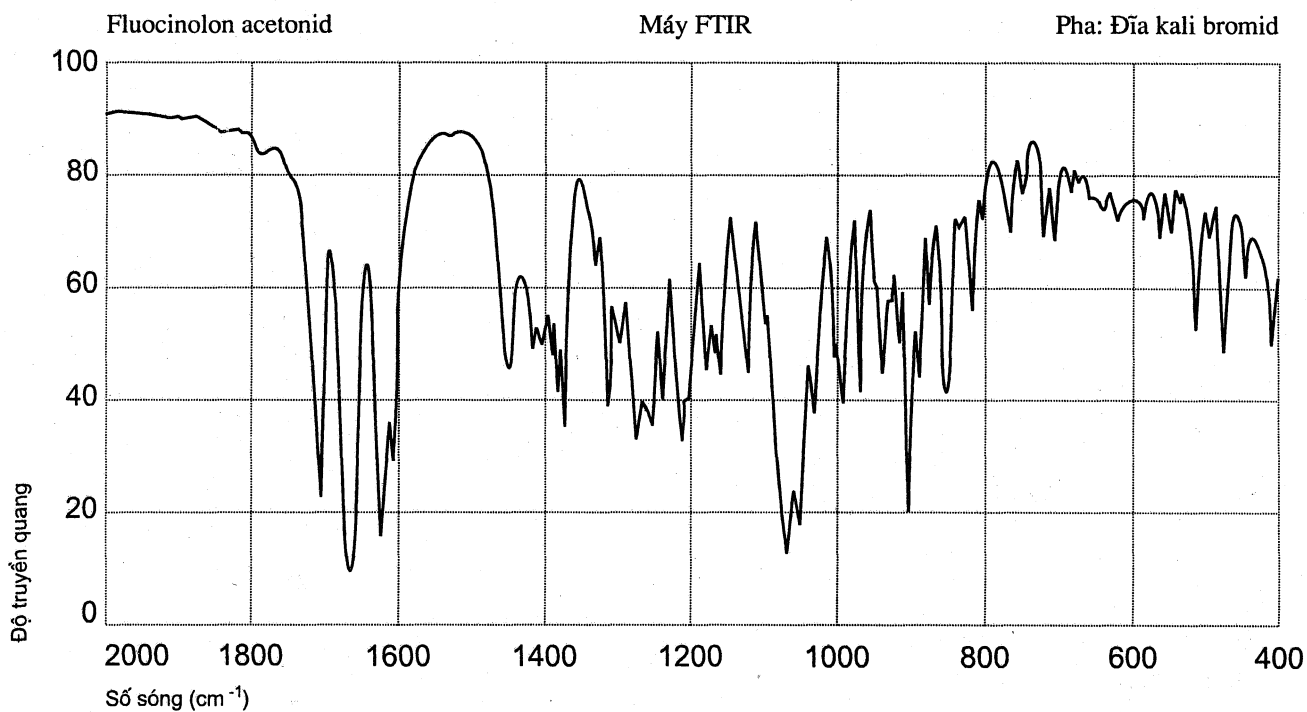
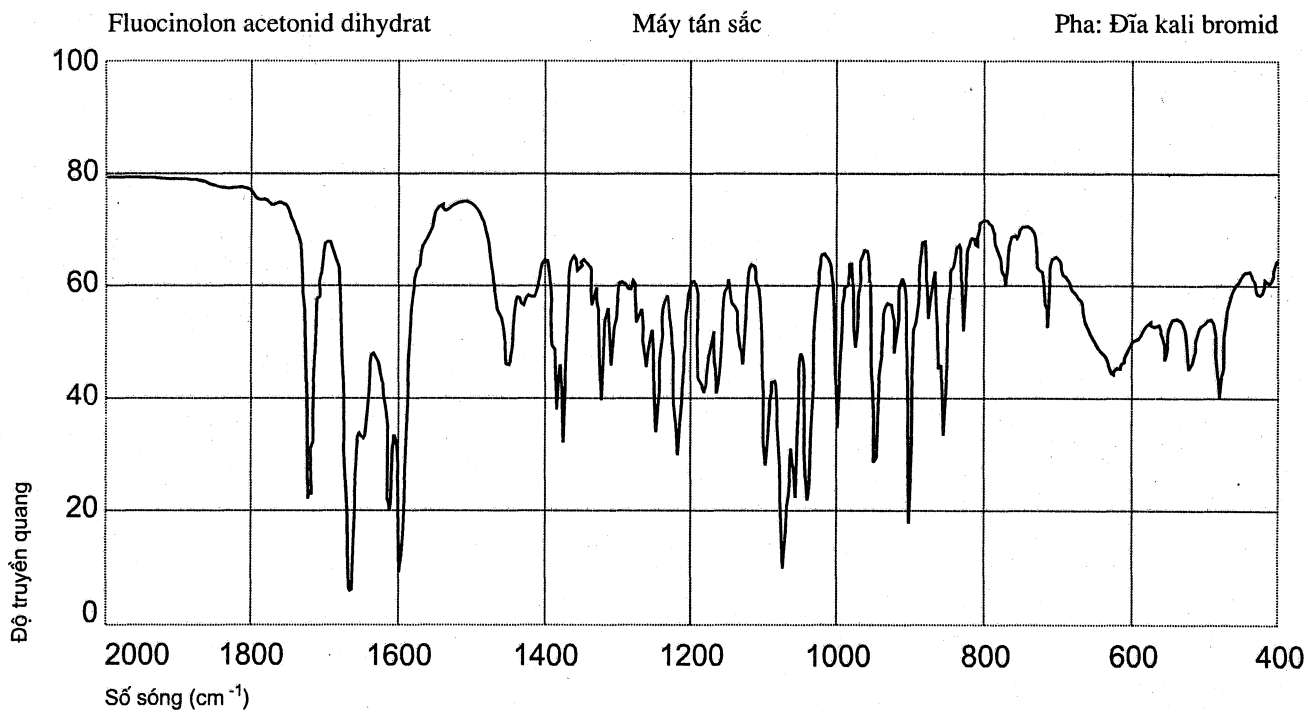
PĐC 074: Erythromycin ethyl succinat**PĐC 075: Erythromycin stearat**

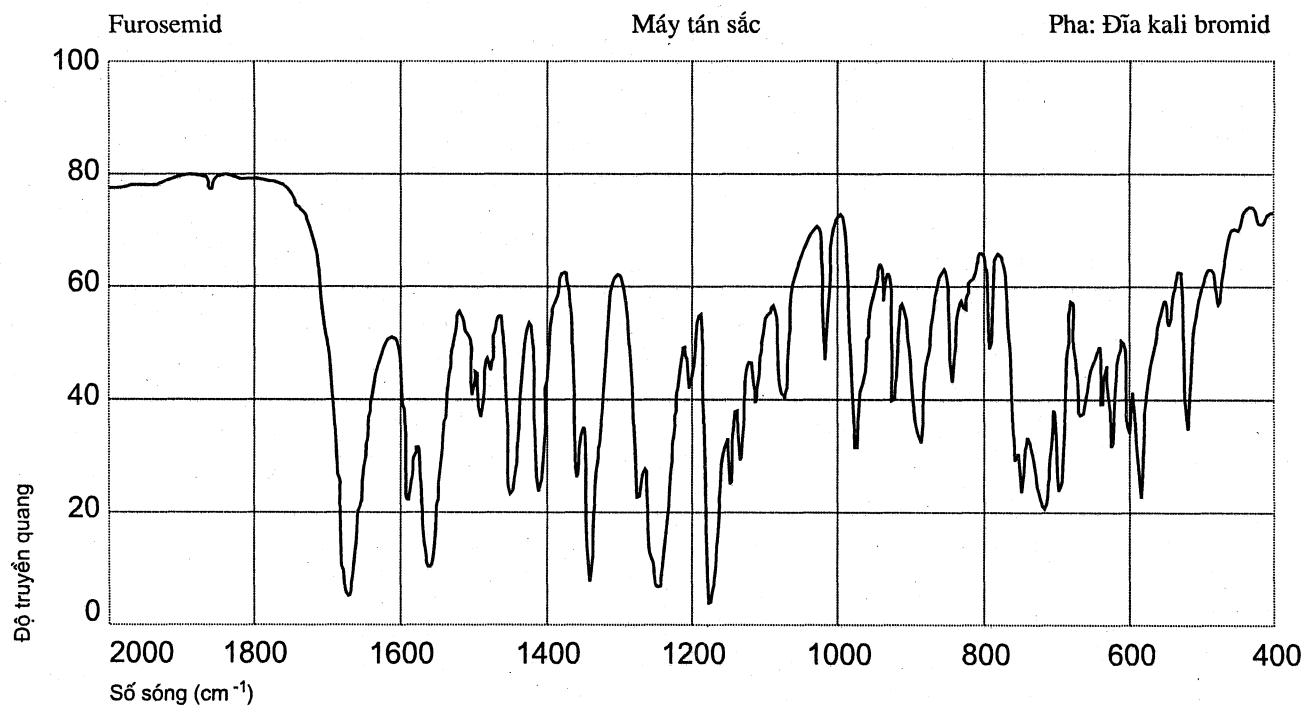
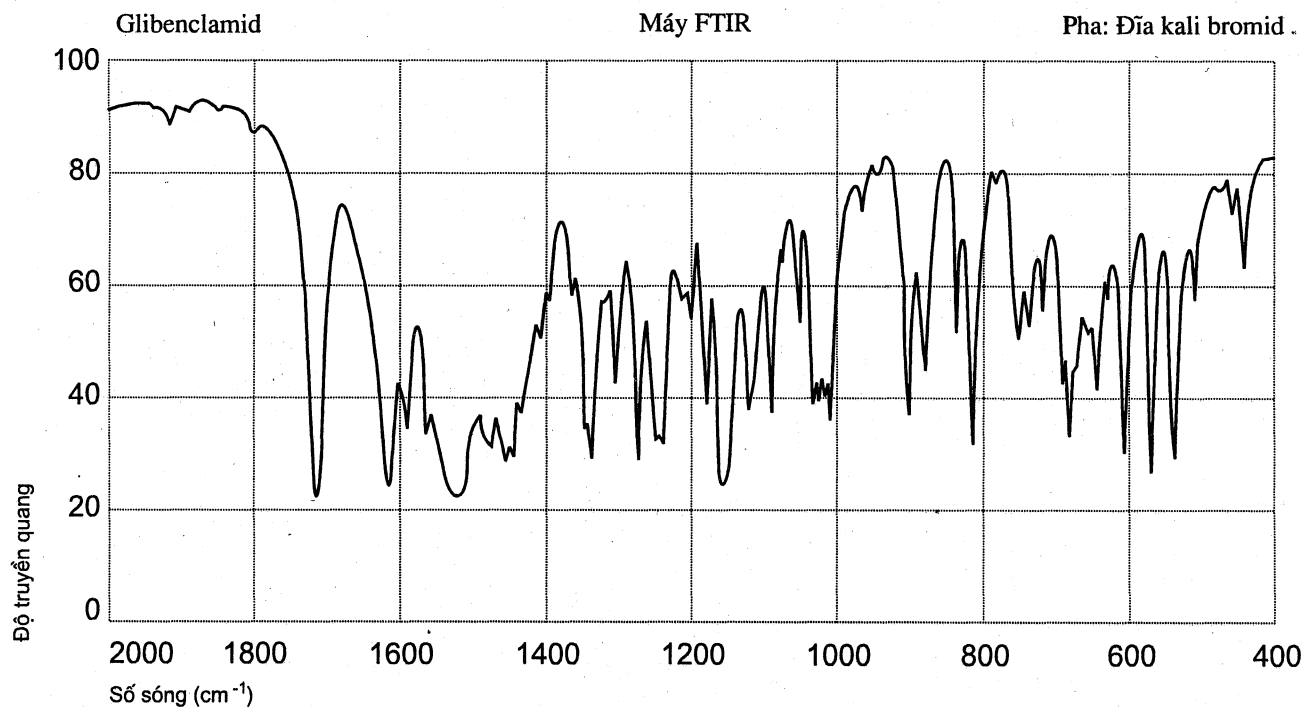
PĐC 076: Ethambutol hydroclorid

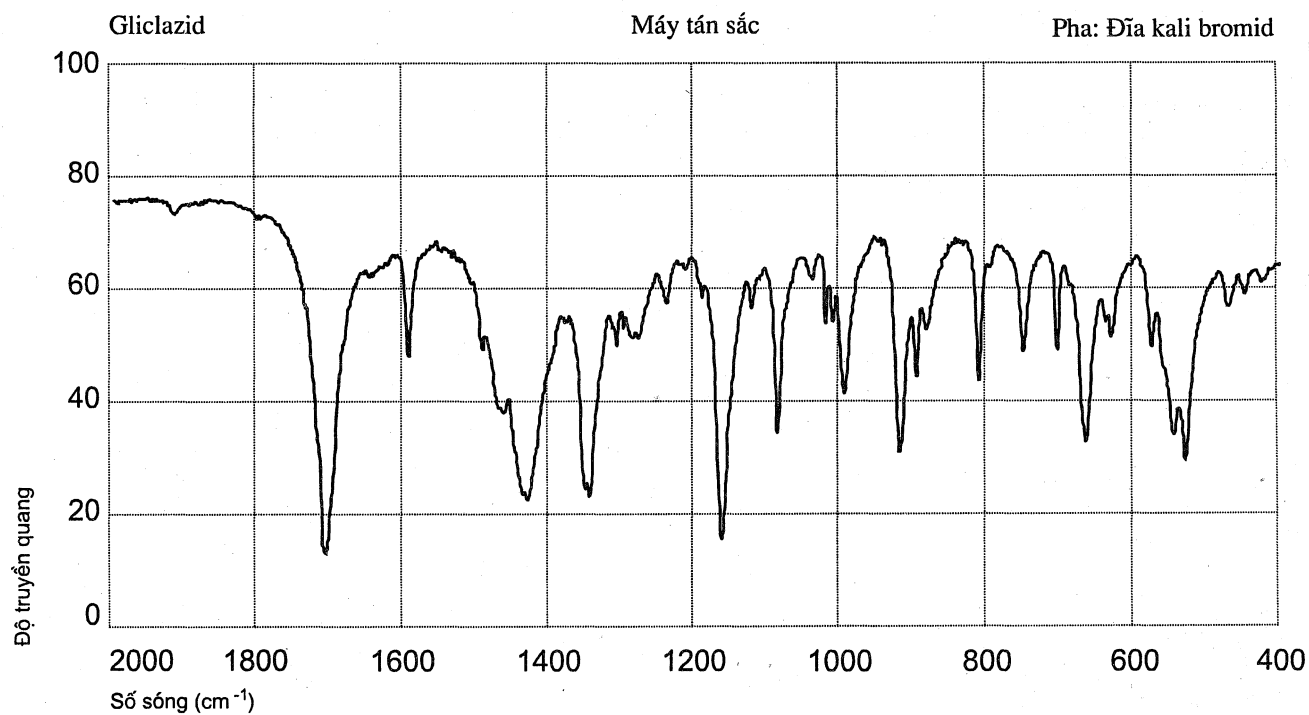
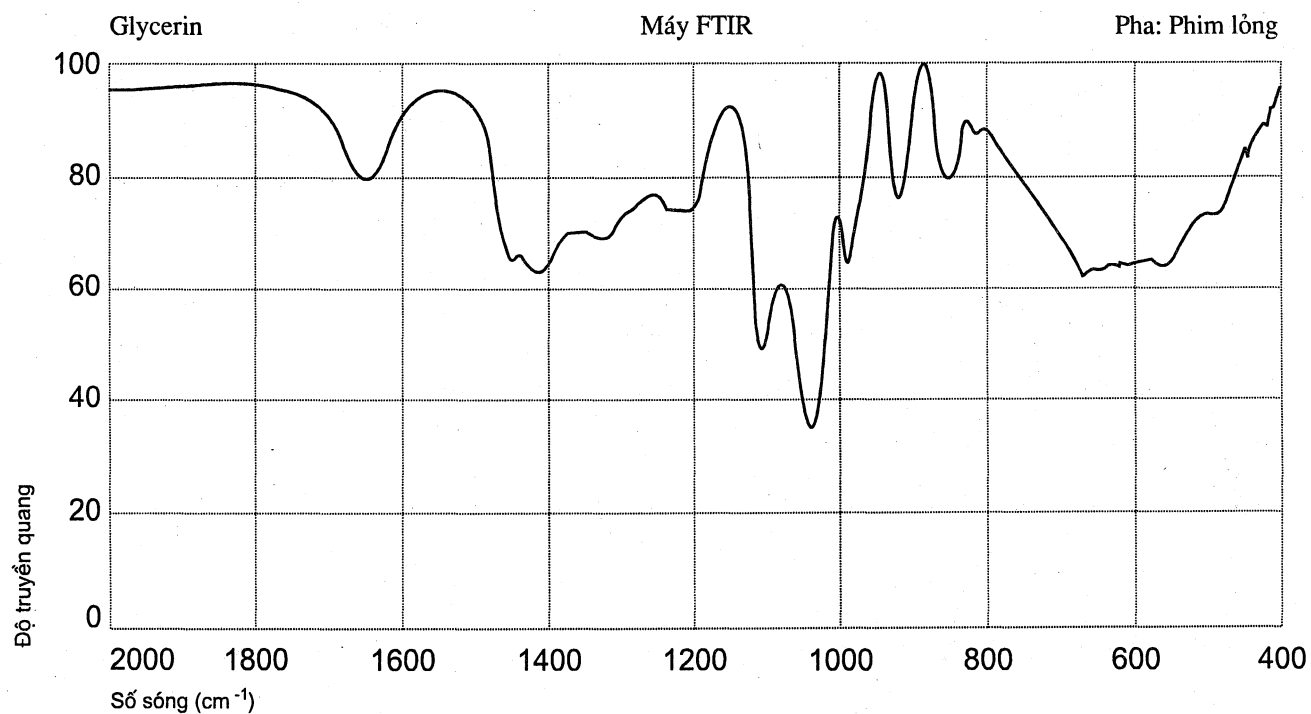


PĐC 077: Flucloxacilin natri

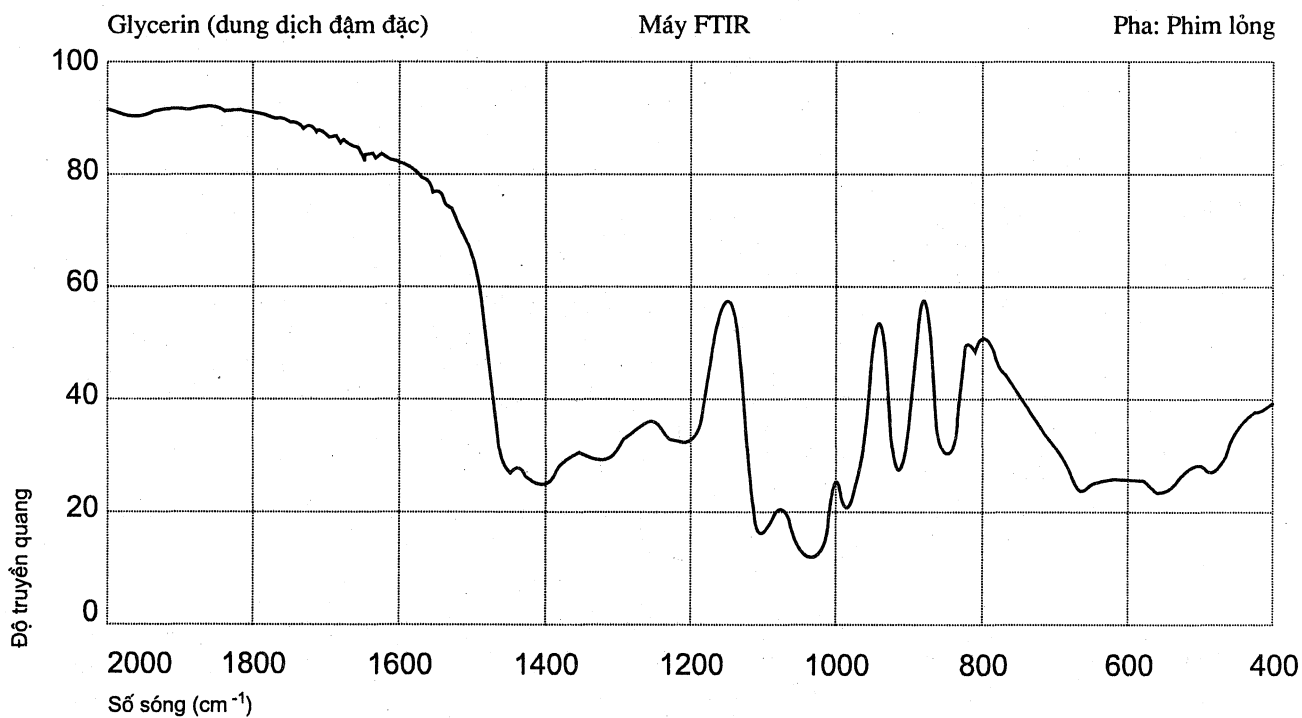


PĐC 078: Fluocinolon acetonid**PĐC 079: Fluocinolon acetonid dihydrat**

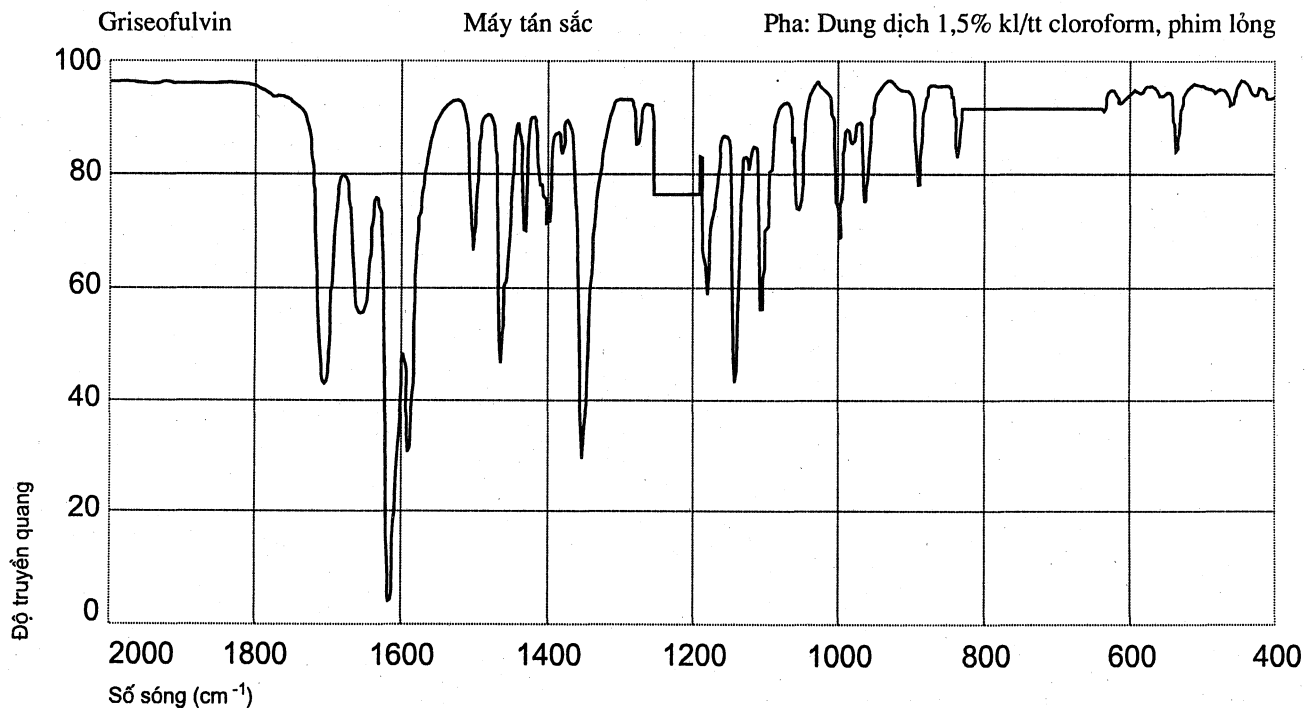
PĐC 080: Furosemid**PĐC 081: Glibenclamid**

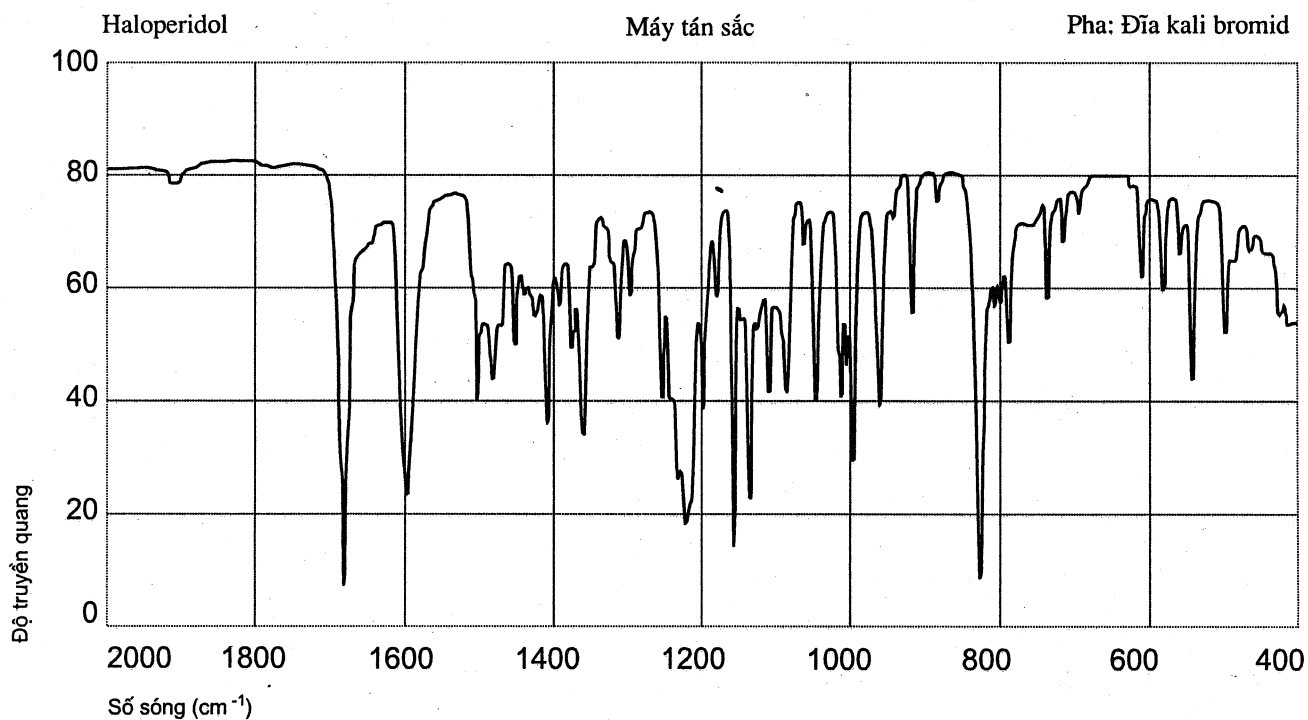
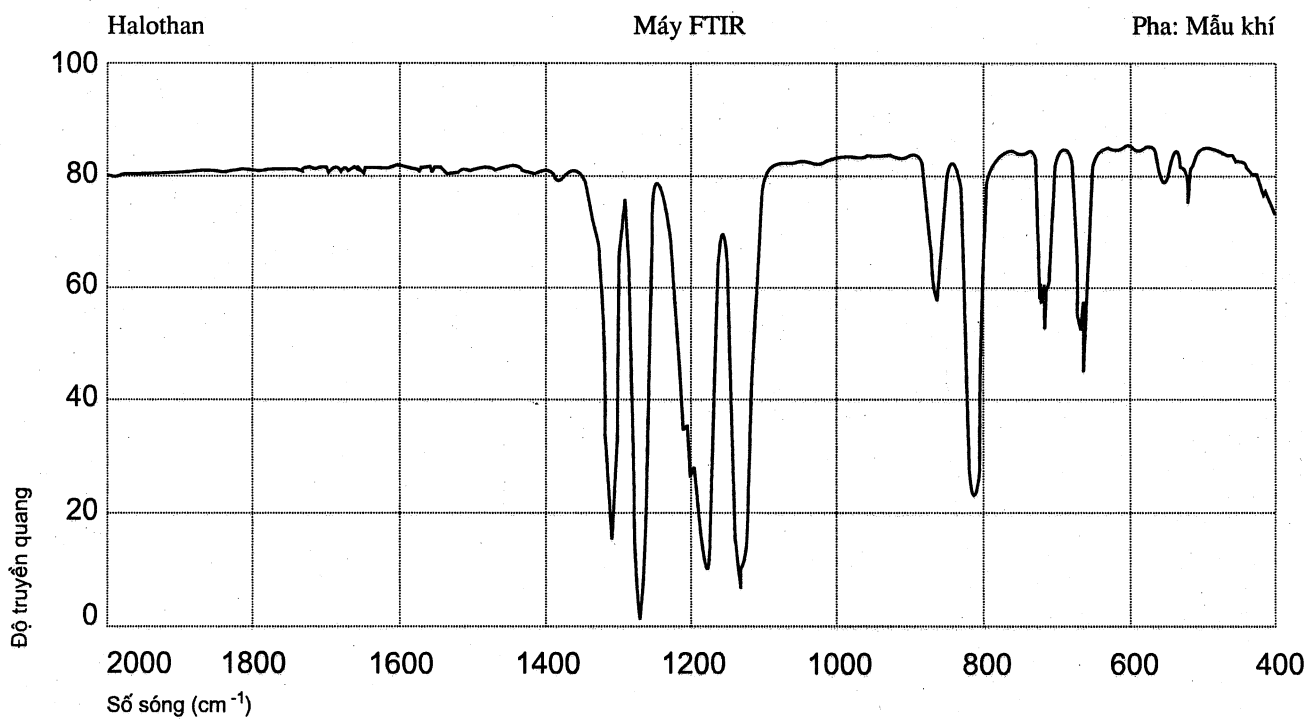
PĐC 082: Gliclazid**PĐC 083: Glycerin**

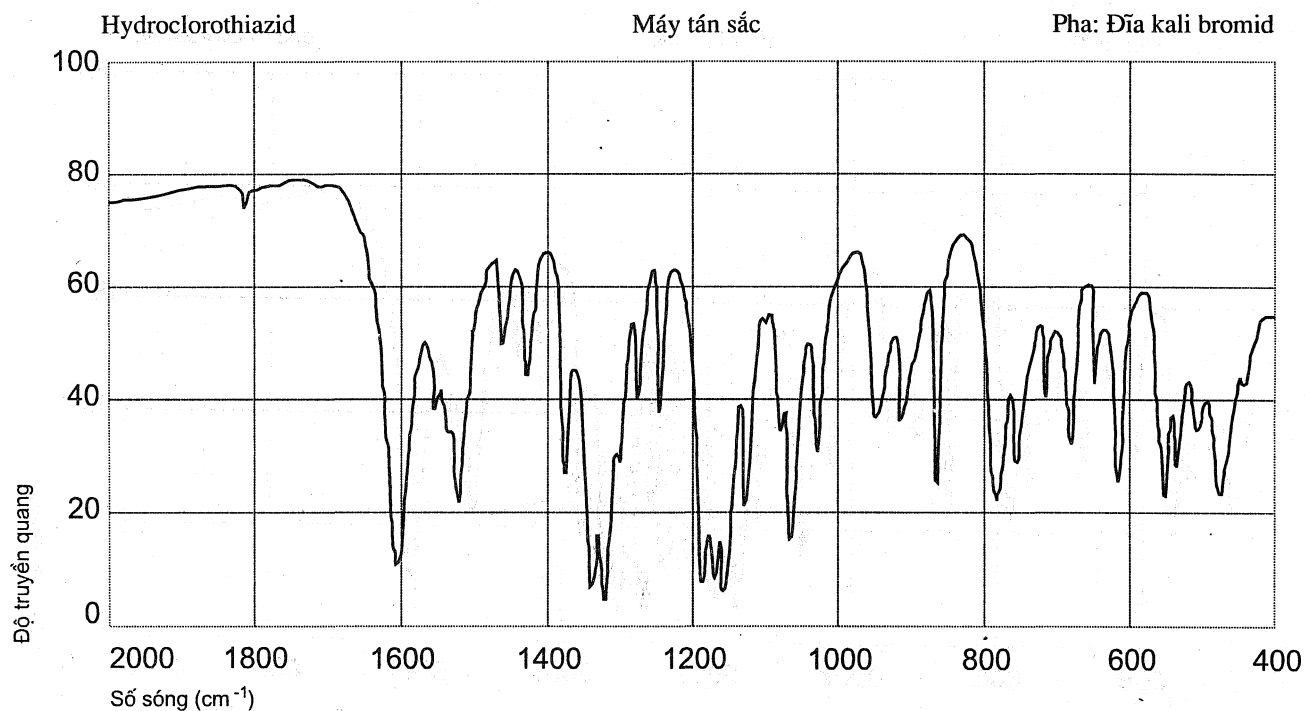
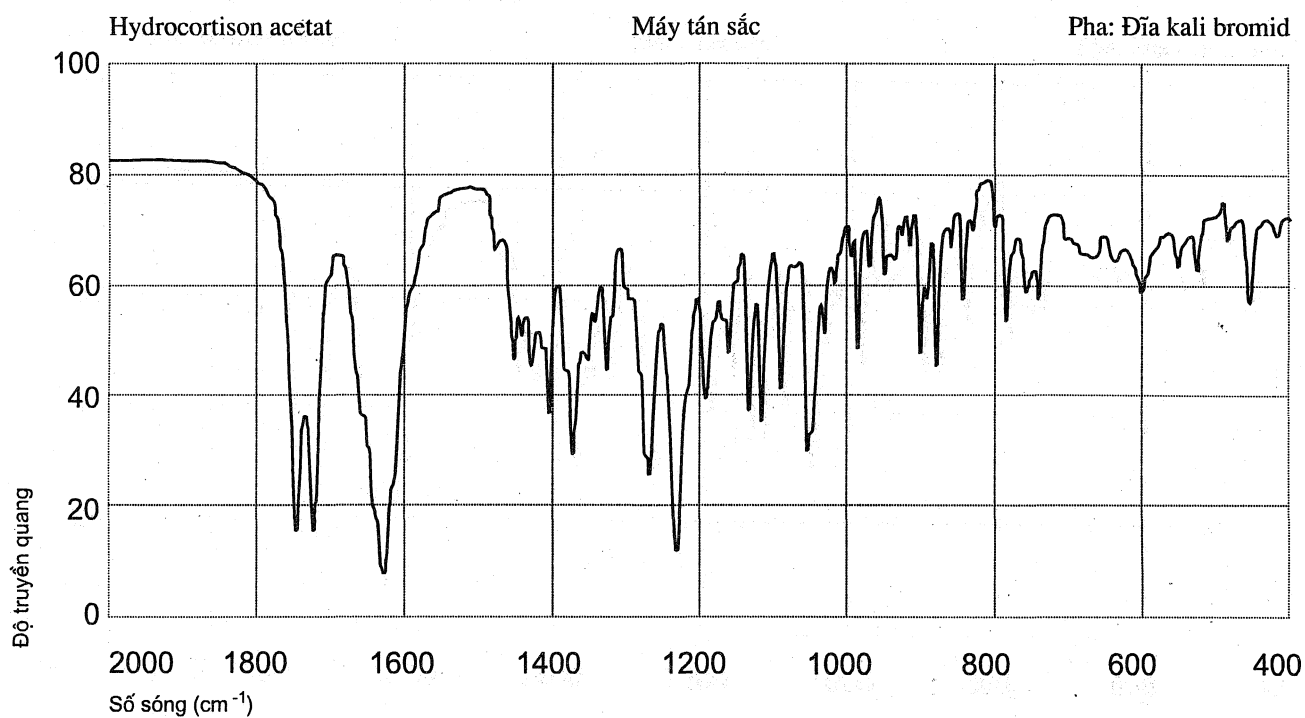
PĐC 084: Glycerin (dung dịch đậm đặc)

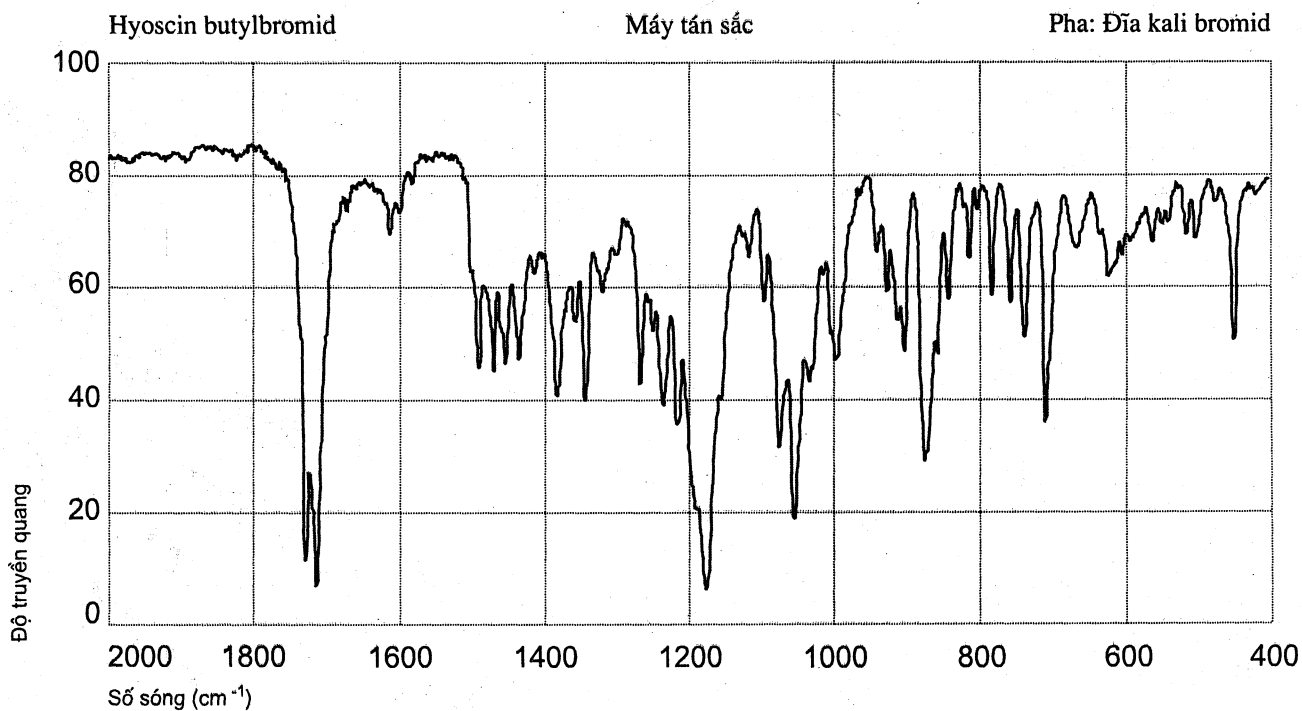
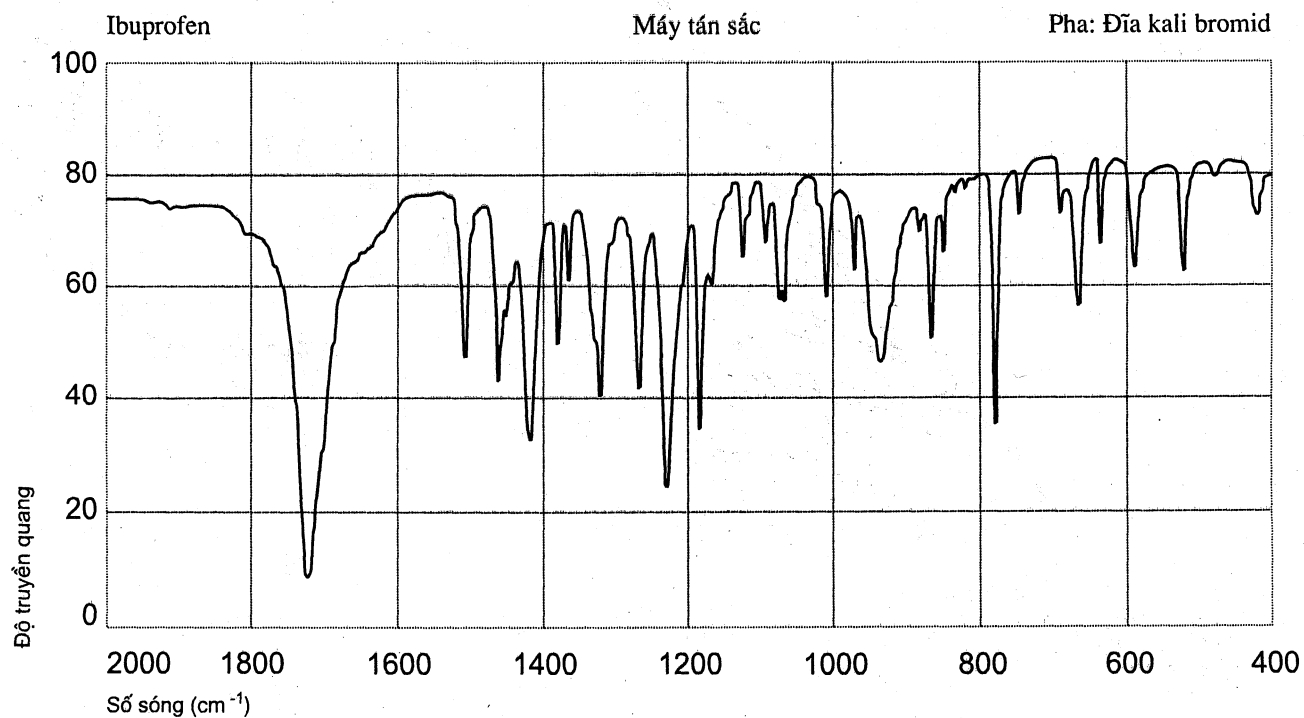


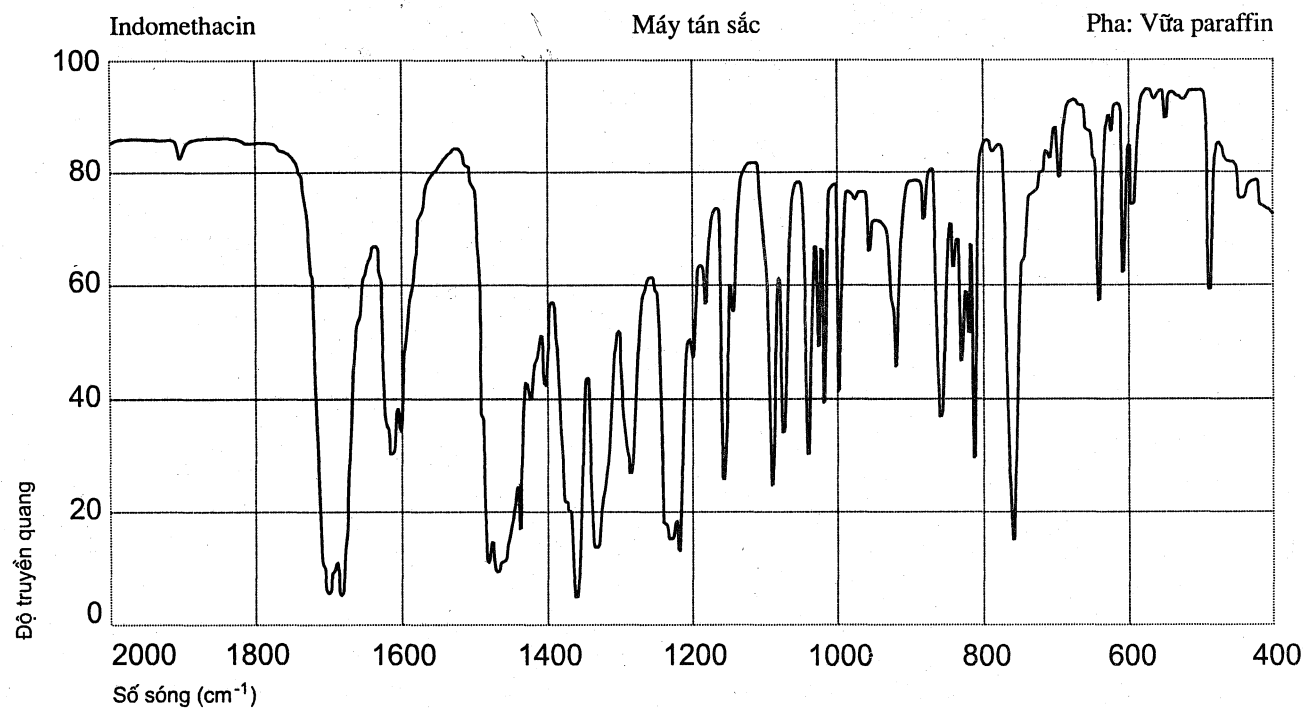
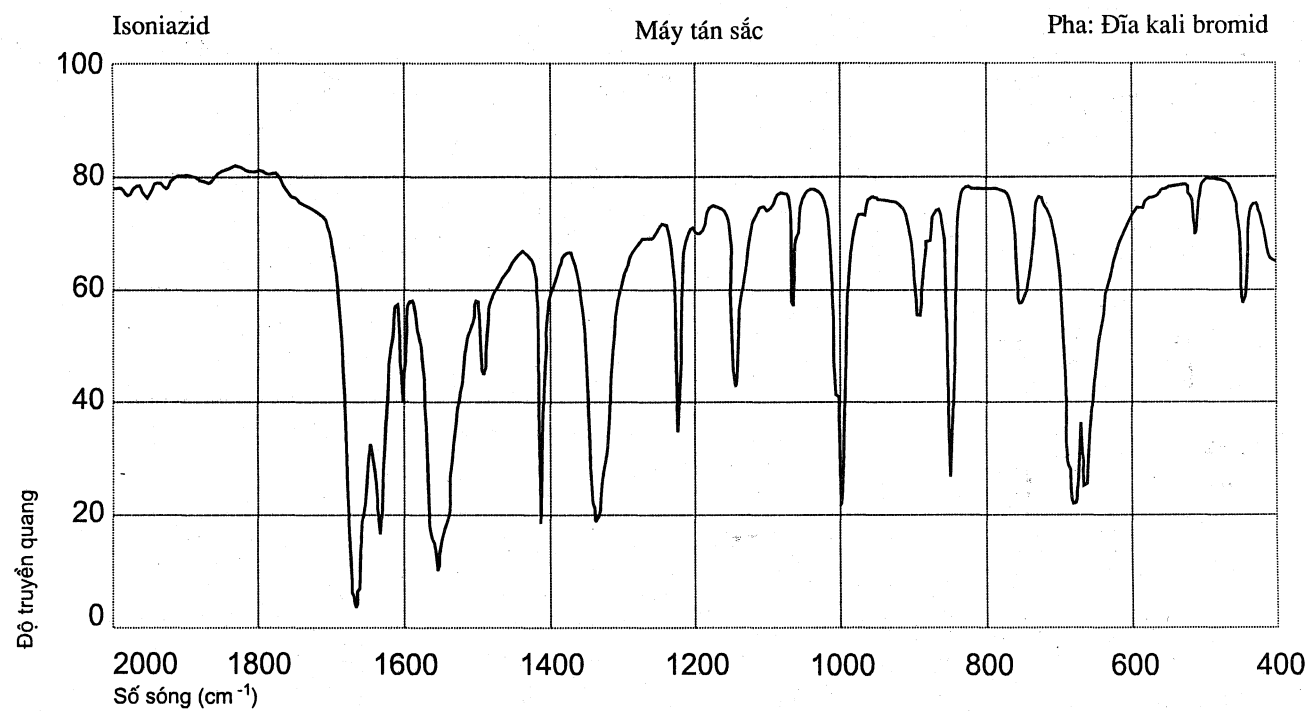
PĐC 085: Griseofulvin

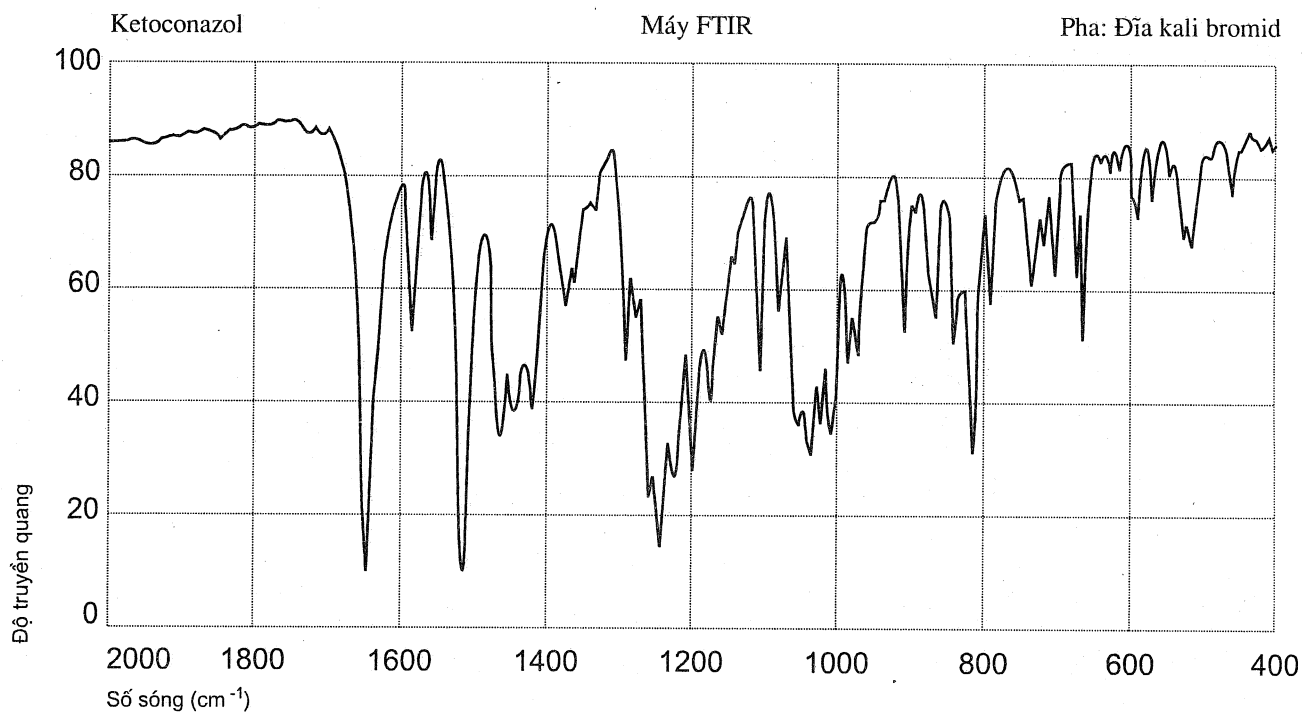
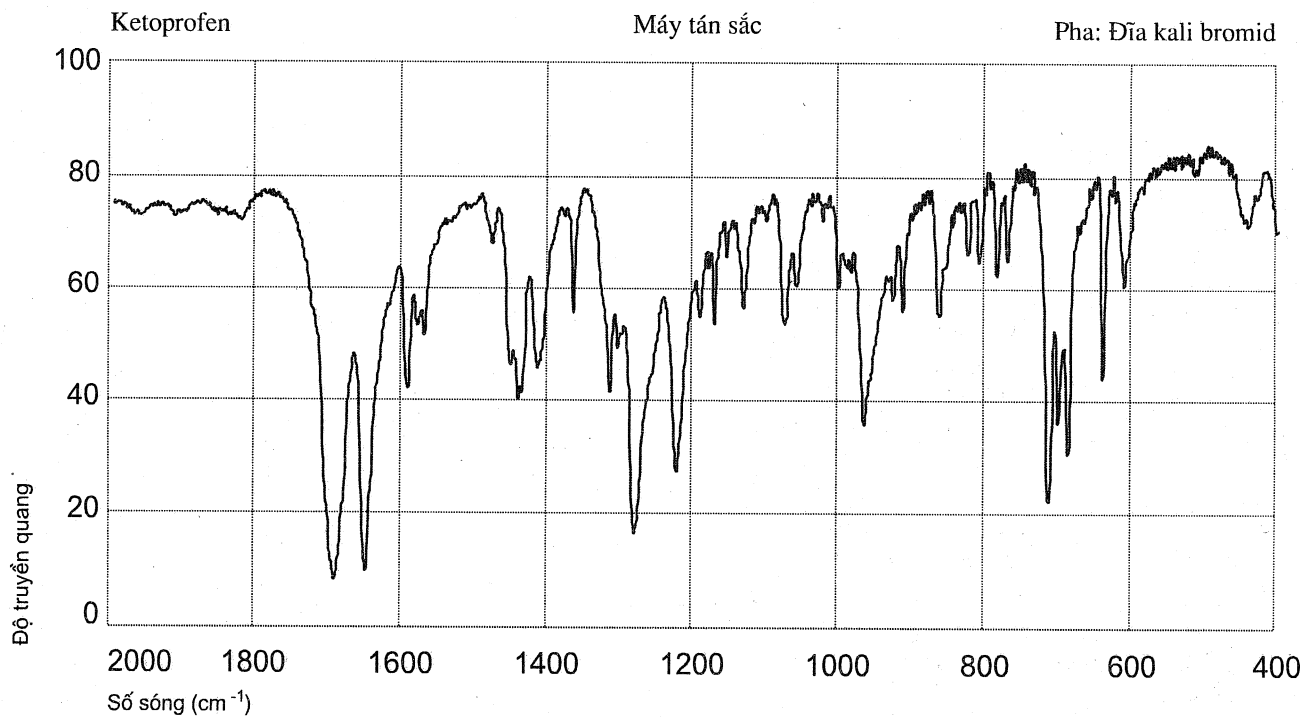


PĐC 086: Haloperidol**PĐC 087: Halothan**

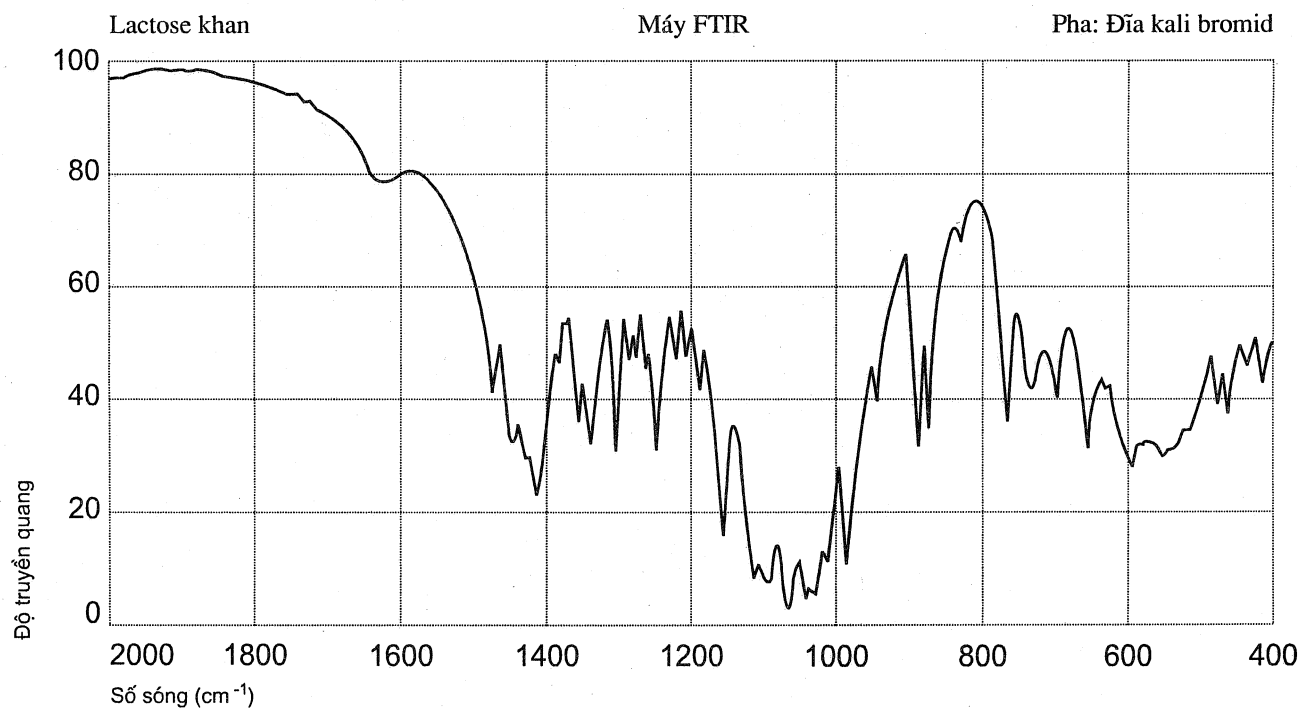
PĐC 088: Hydrochlorothiazid**PĐC 089: Hydrocortison acetat**

PĐC 090: Hyoscin butylbromid**PĐC 091: Ibuprofen**

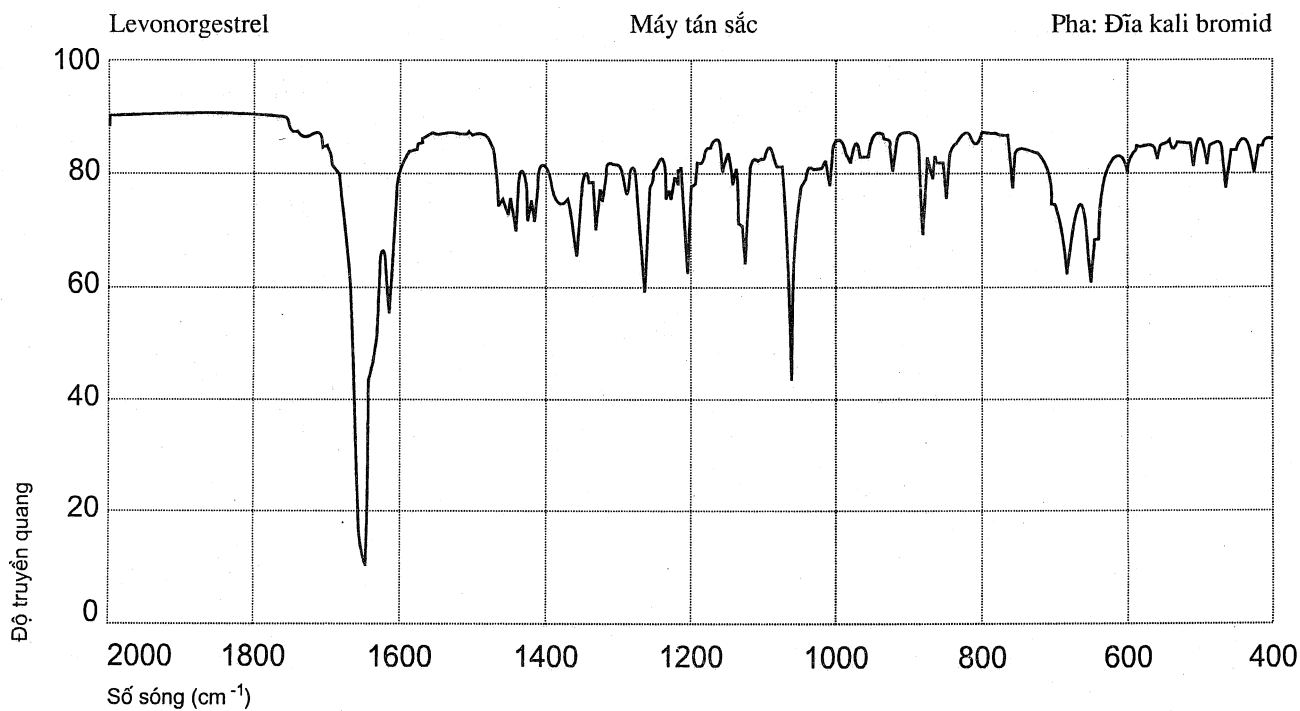
PĐC 092: Idomethacin**PĐC 093: Isoniazid**

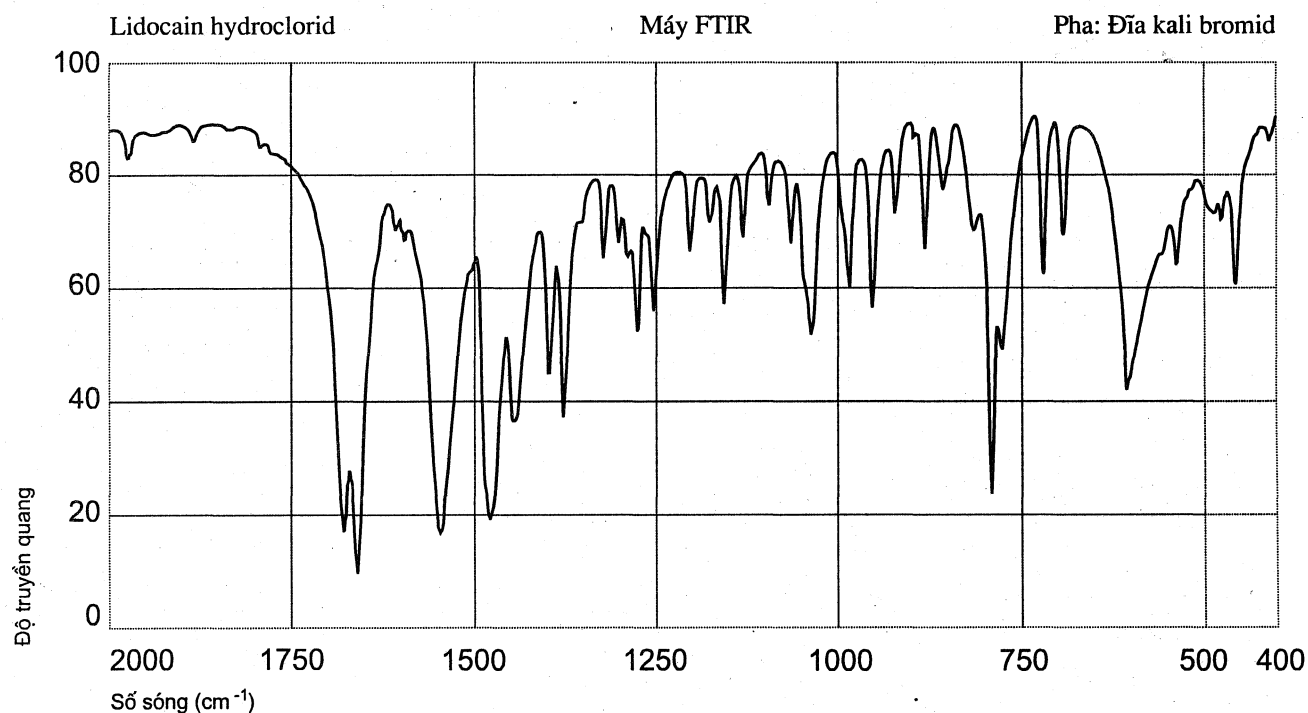
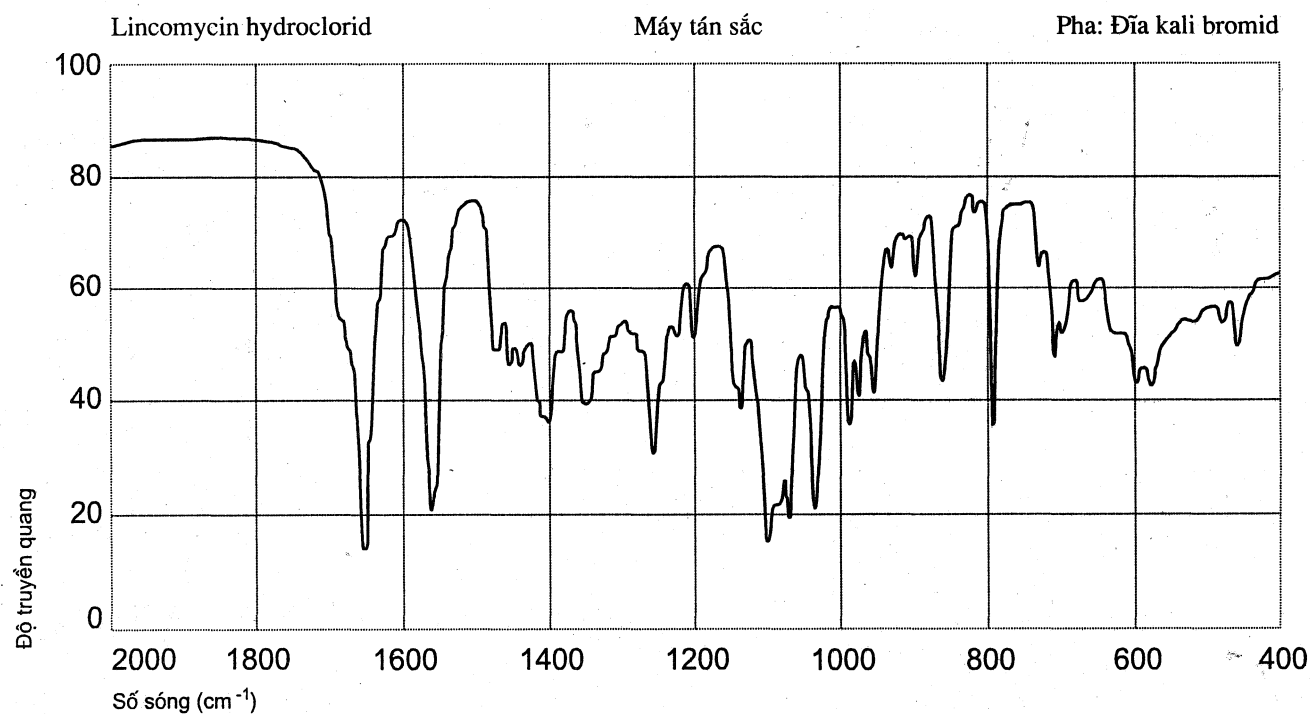
PĐC 094: Ketoconazol**PĐC 095. Ketoprofen**

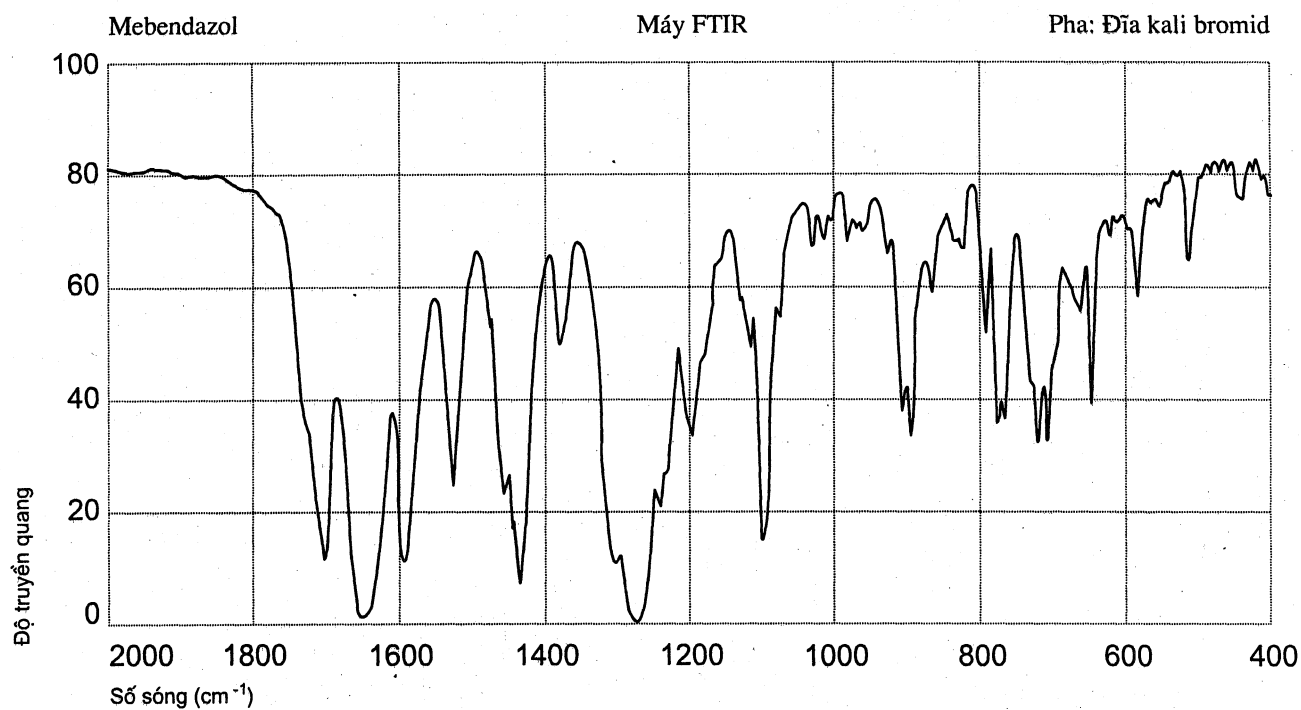
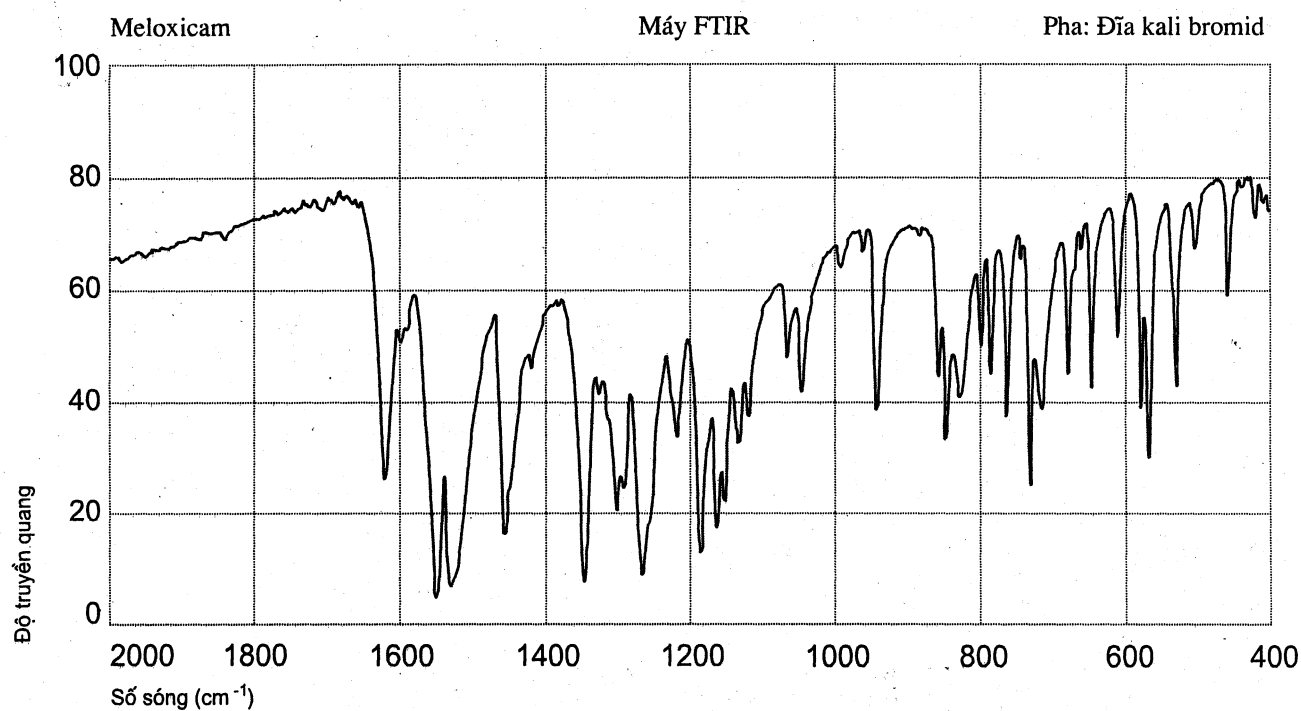
PĐC 096: Lactose khan

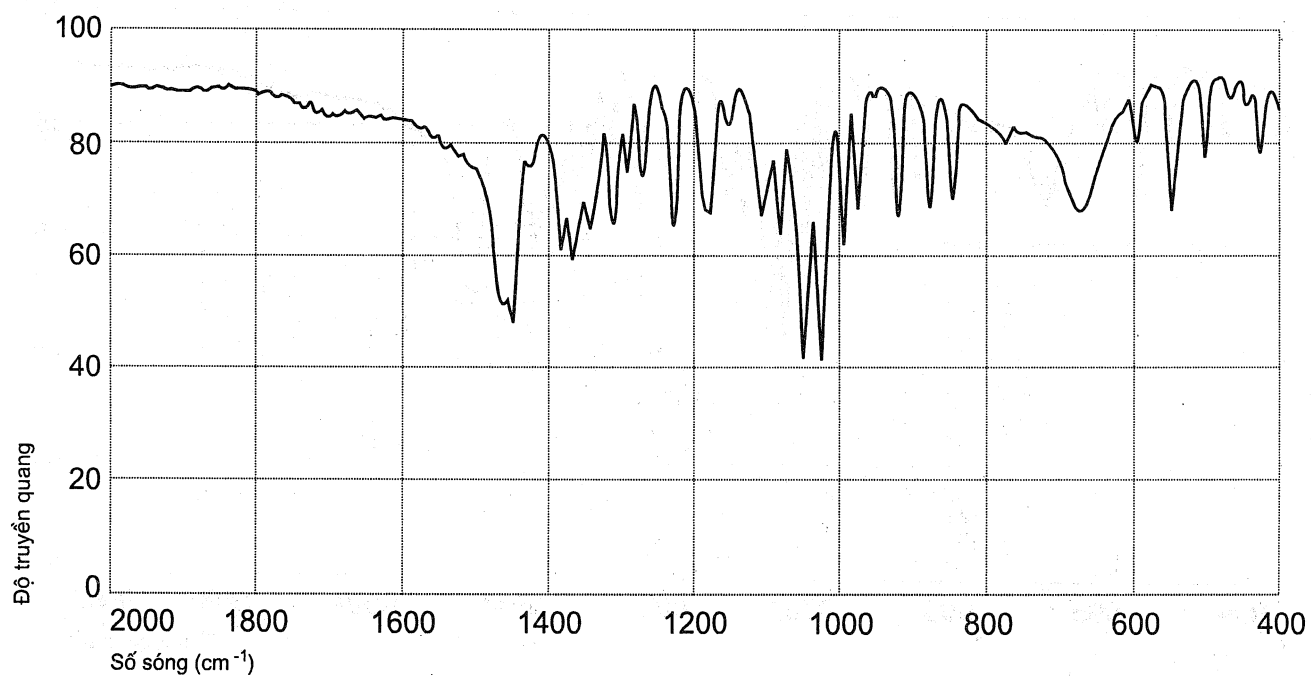
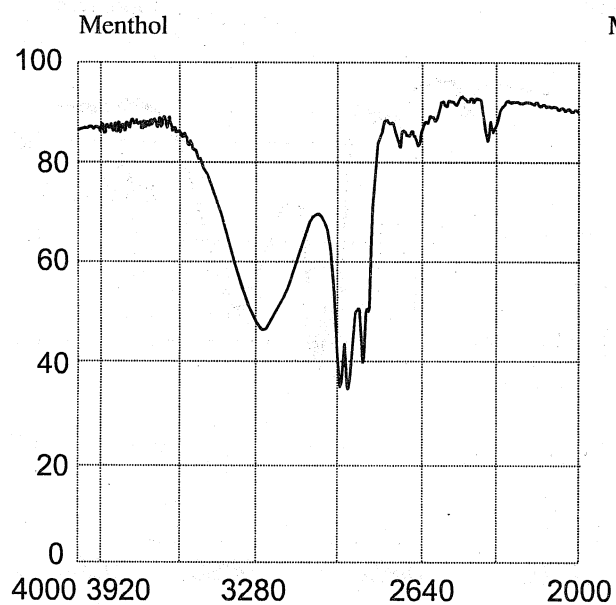


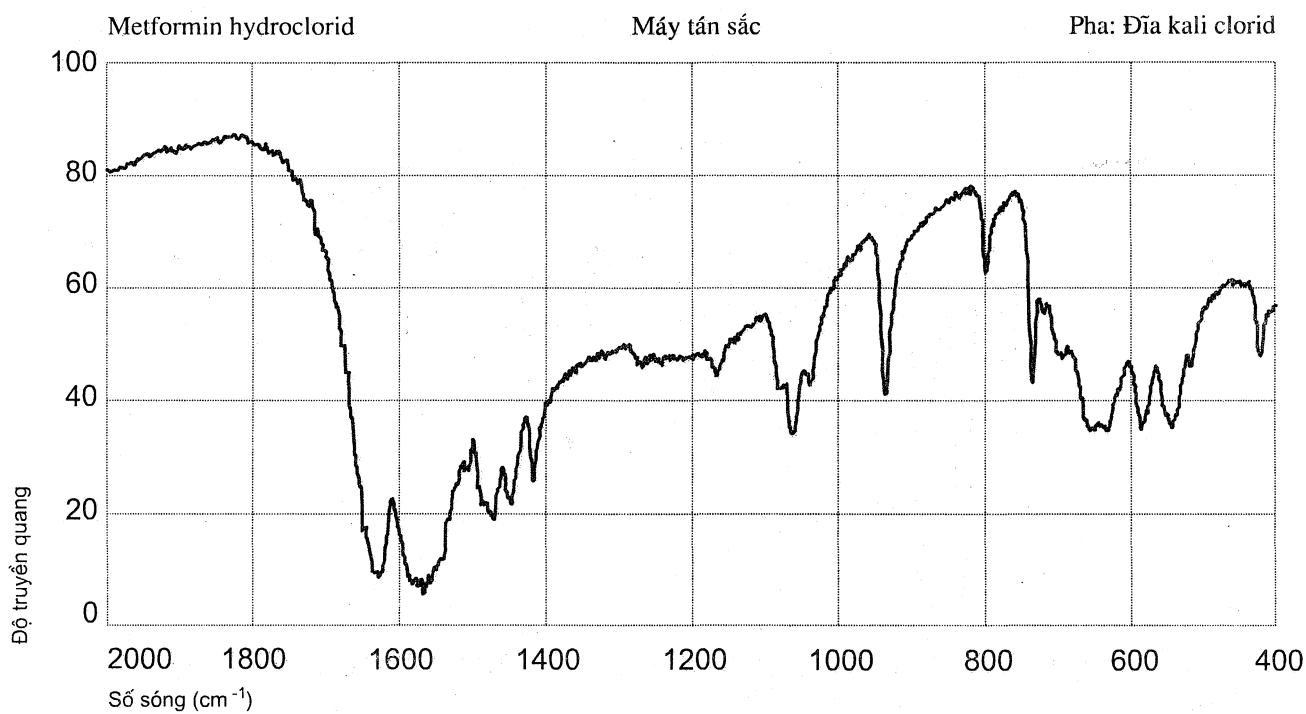
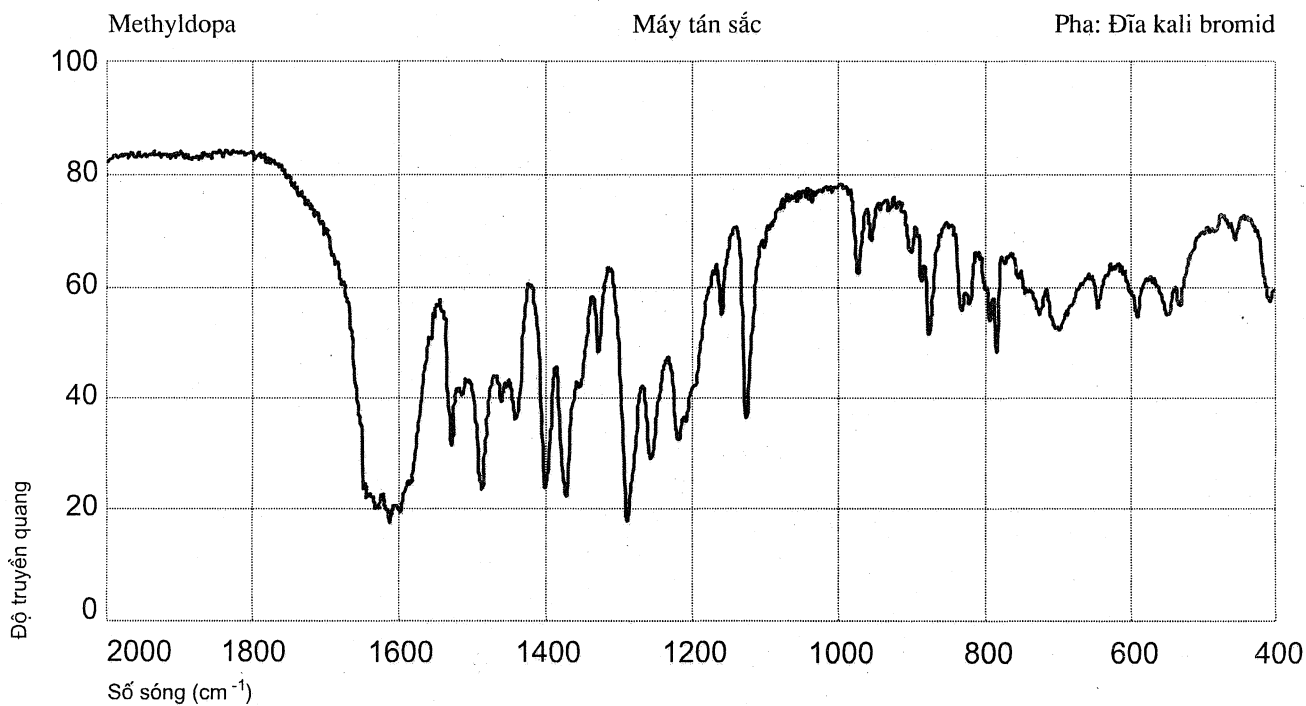
PĐC 097: Levonorgestrel

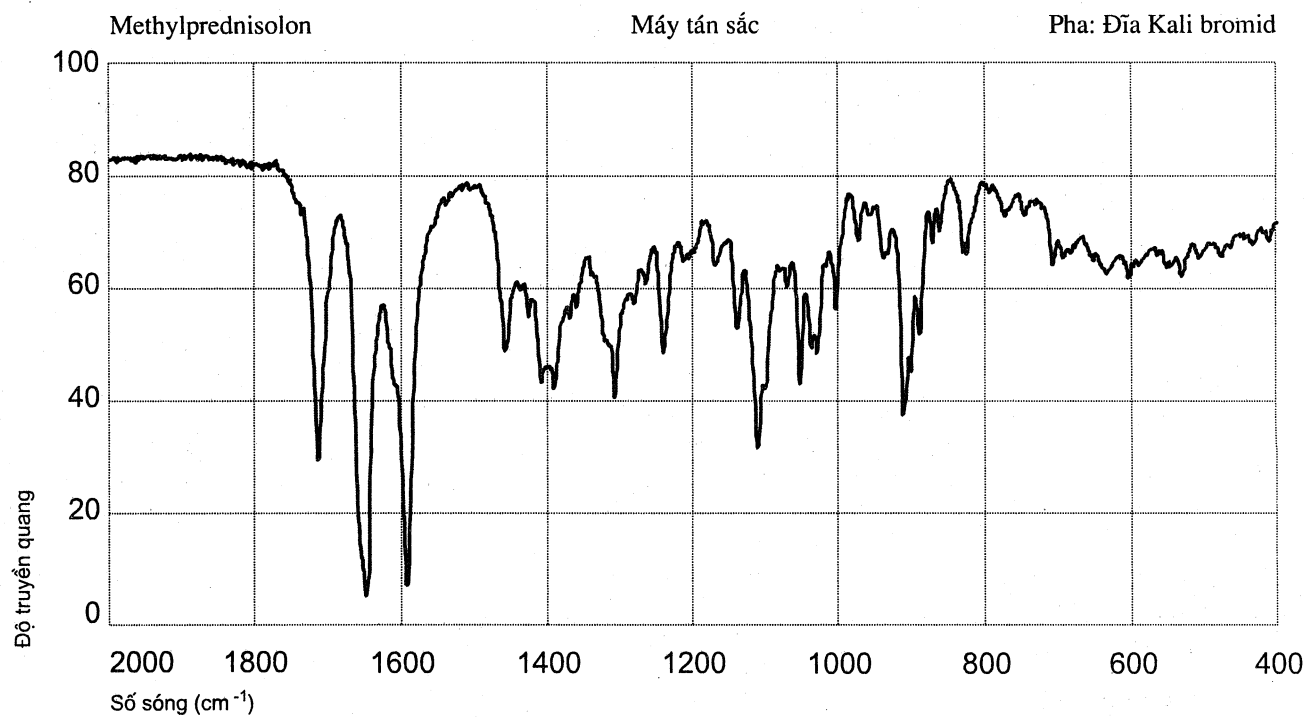
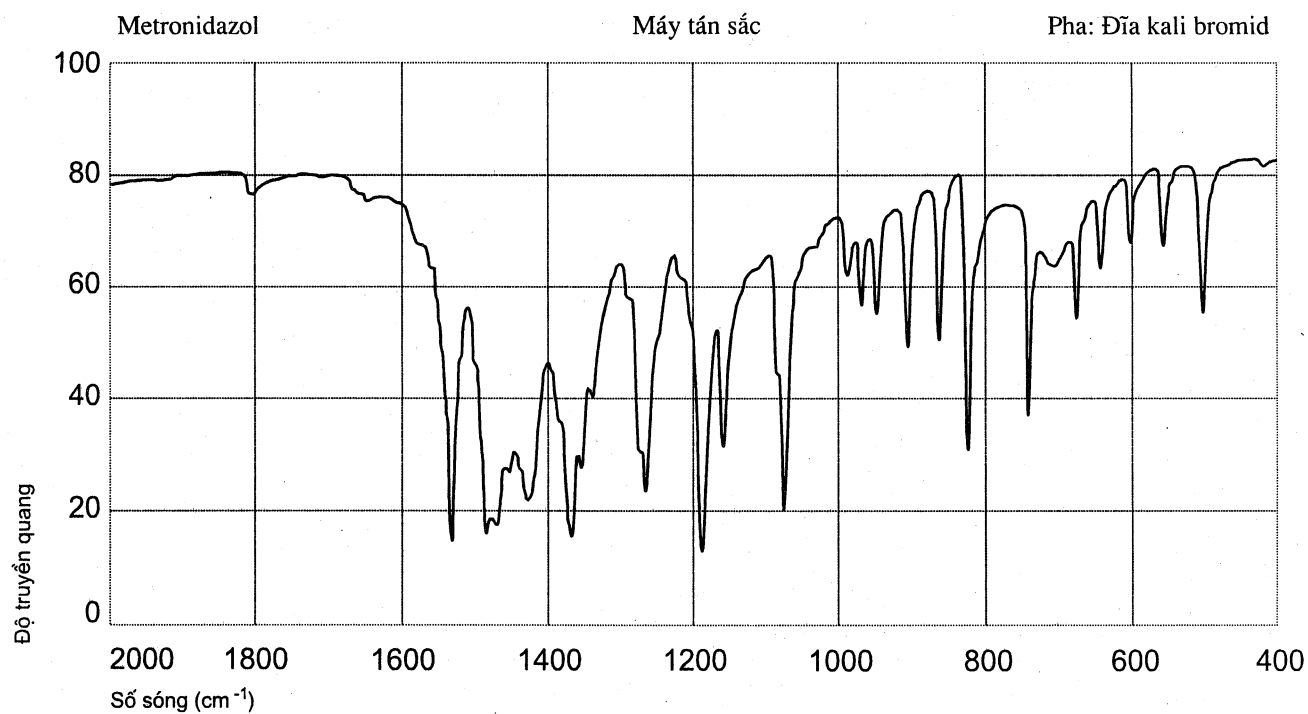


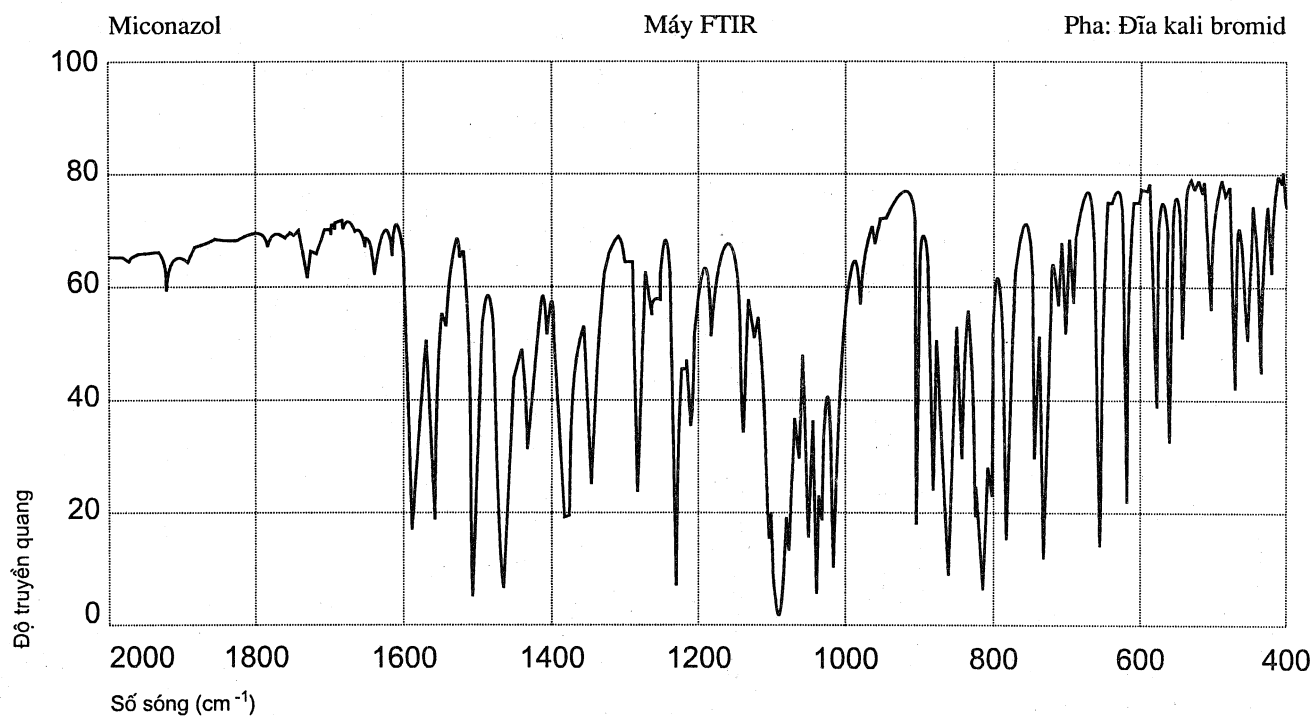
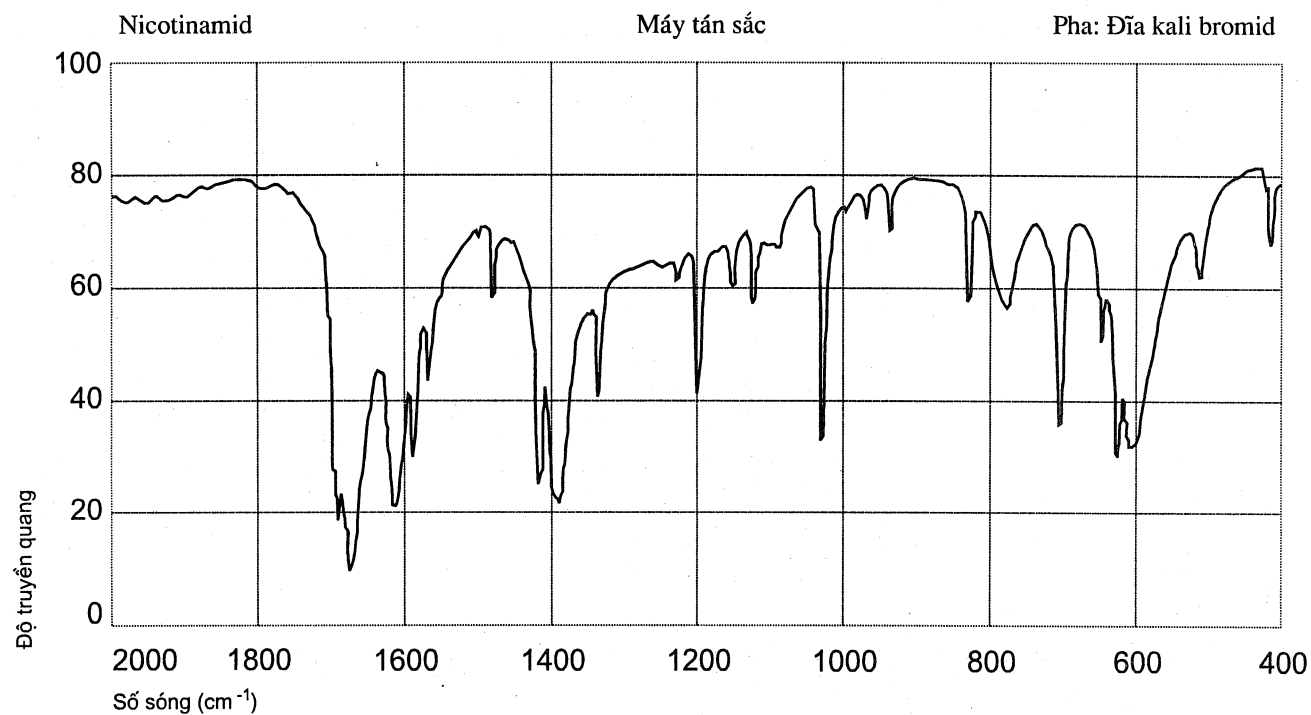
PĐC 098: Lidocain hydroclorid**PĐC 099: Lincomycin hydroclorid**

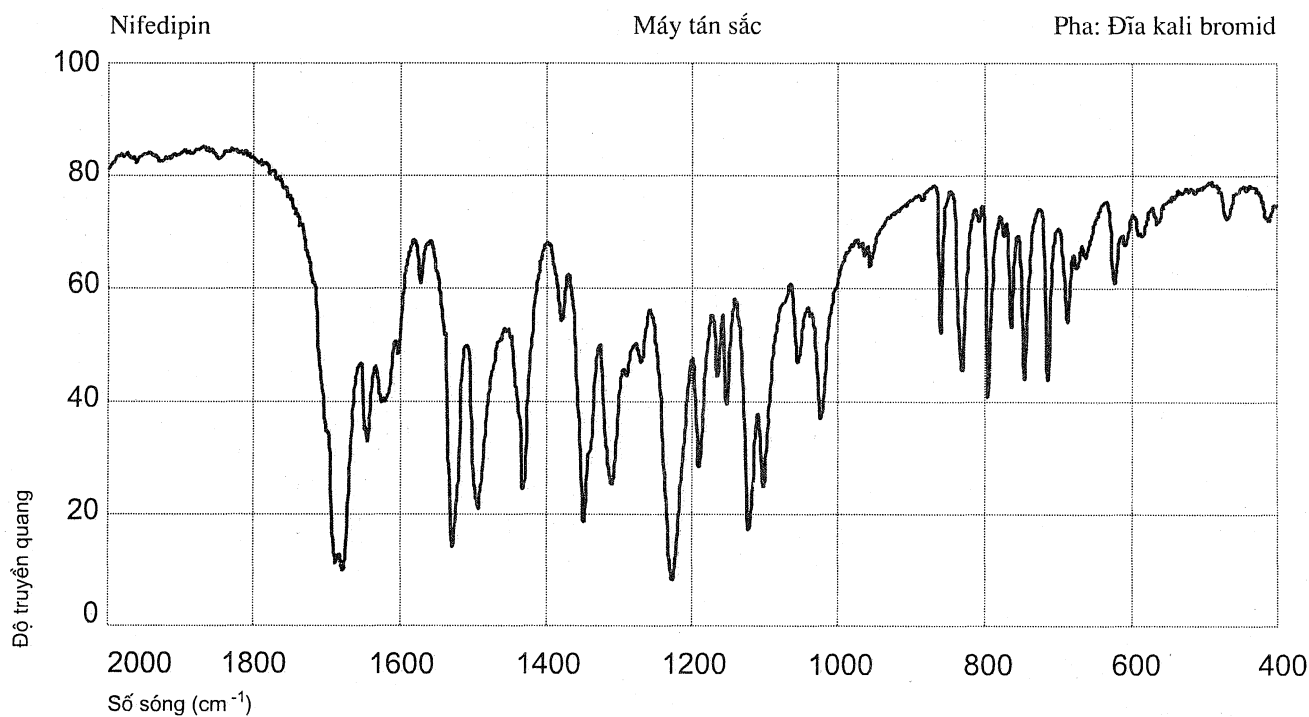
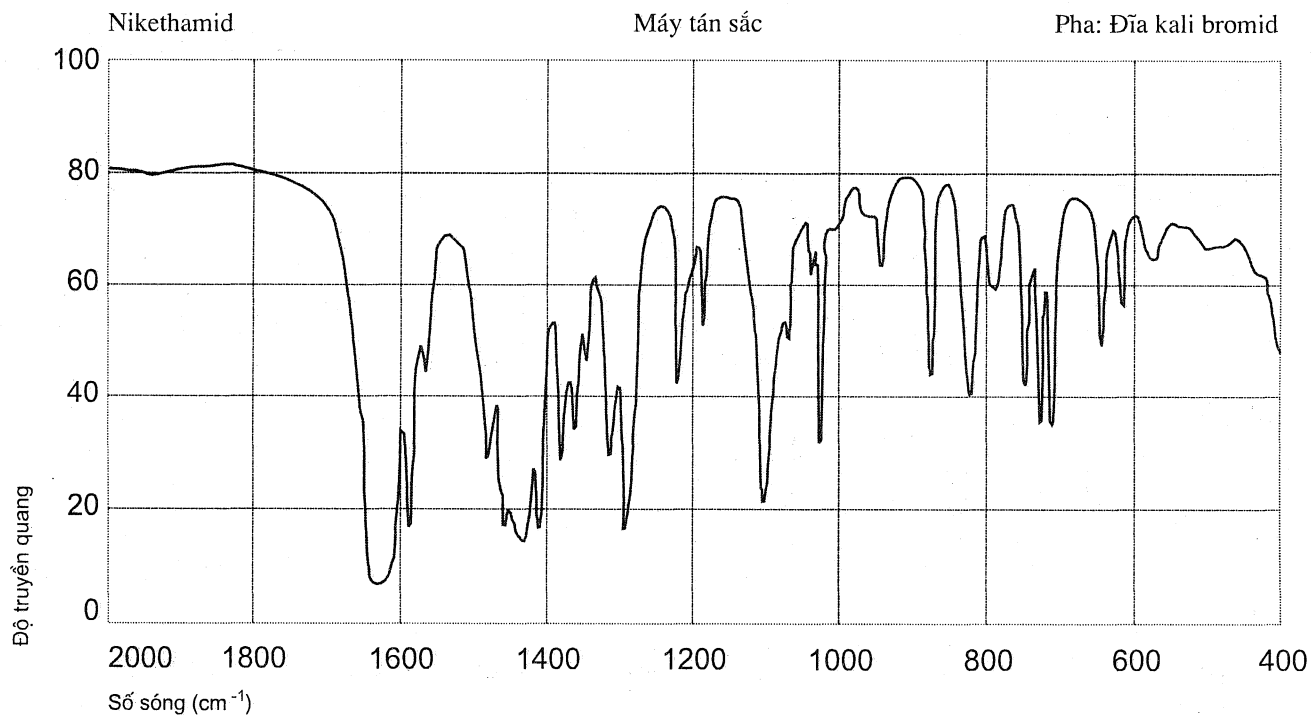
PĐC 100: Mebendazol**PĐC 101: Meloxicam**

PĐC 102: Menthol

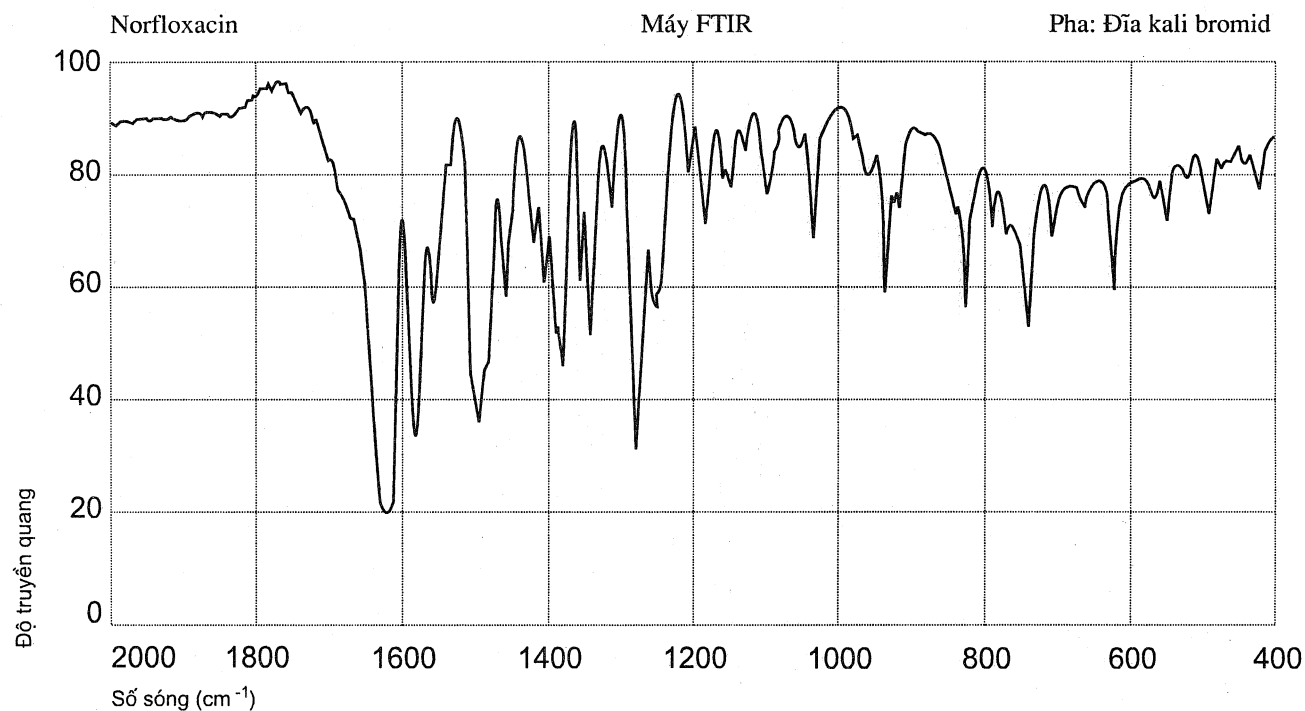
PĐC 103: Metformin hydroclorid**PĐC 104: Methyldopa**

PĐC 105: Methylprednisolon**PĐC 106: Metronidazol**

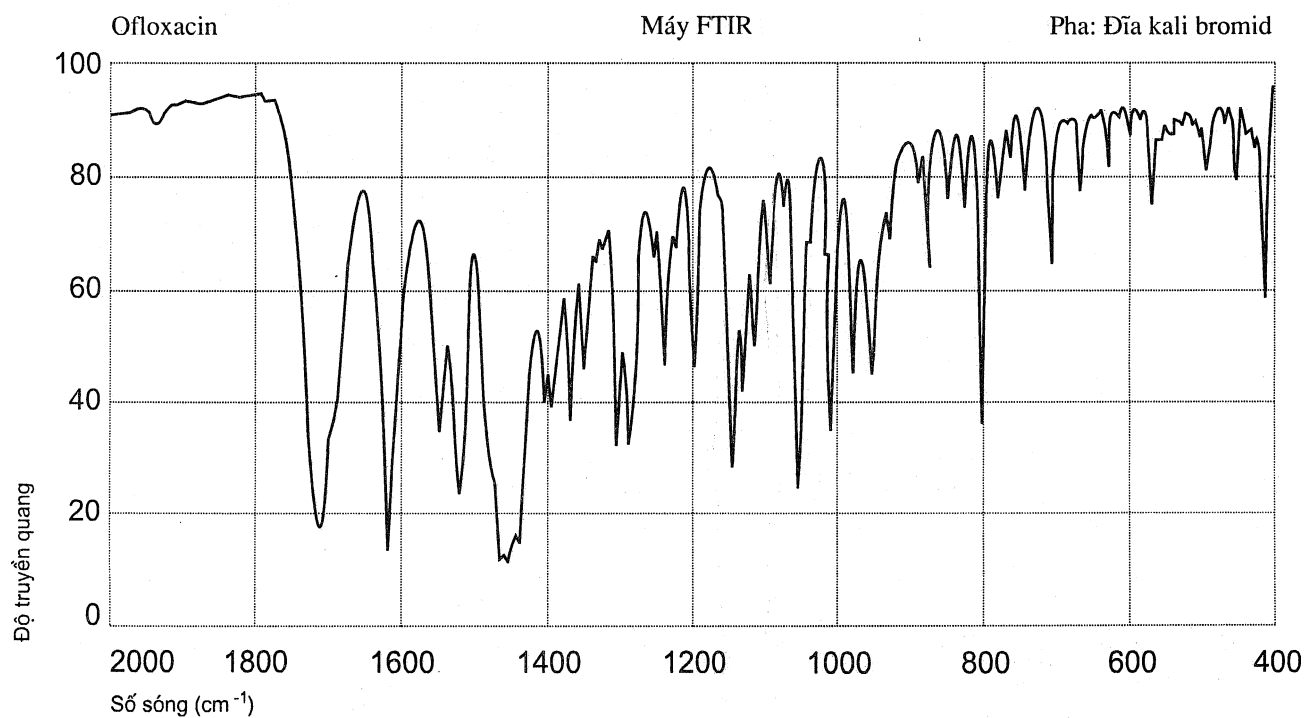
PĐC 107: Miconazol**PĐC 108: Nicotinamid**

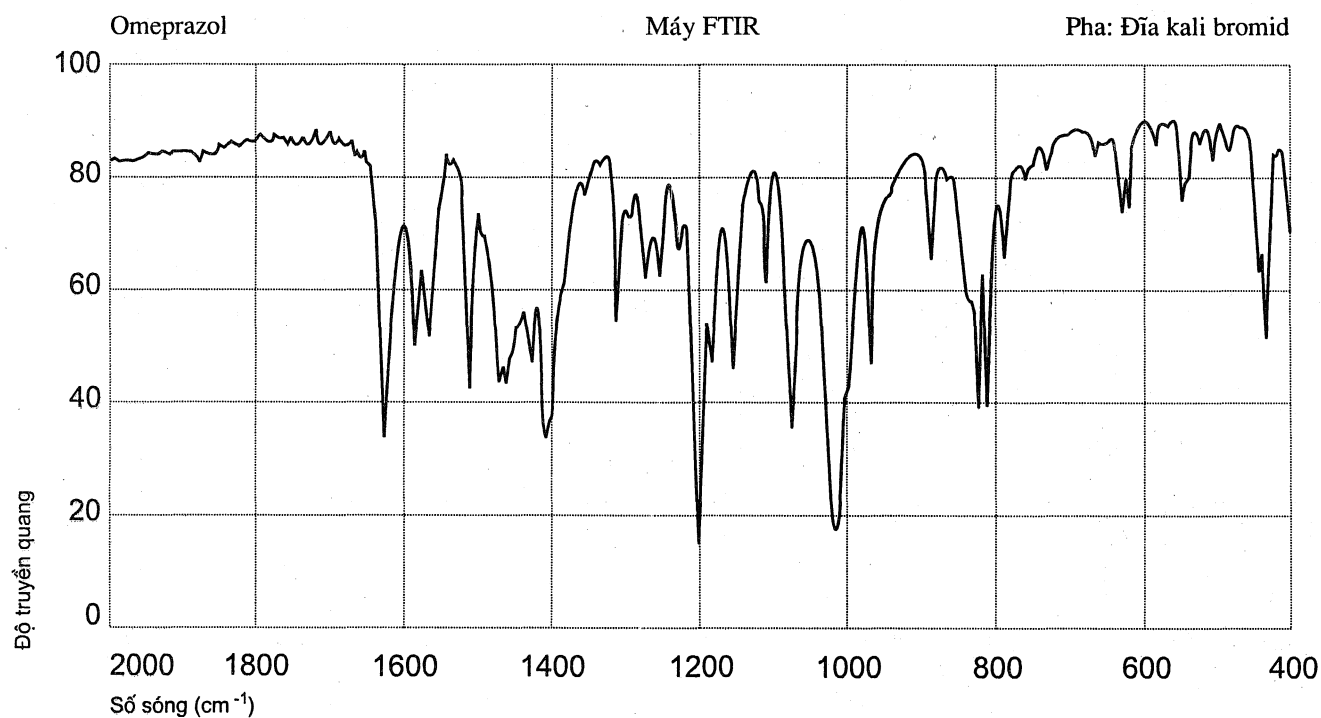
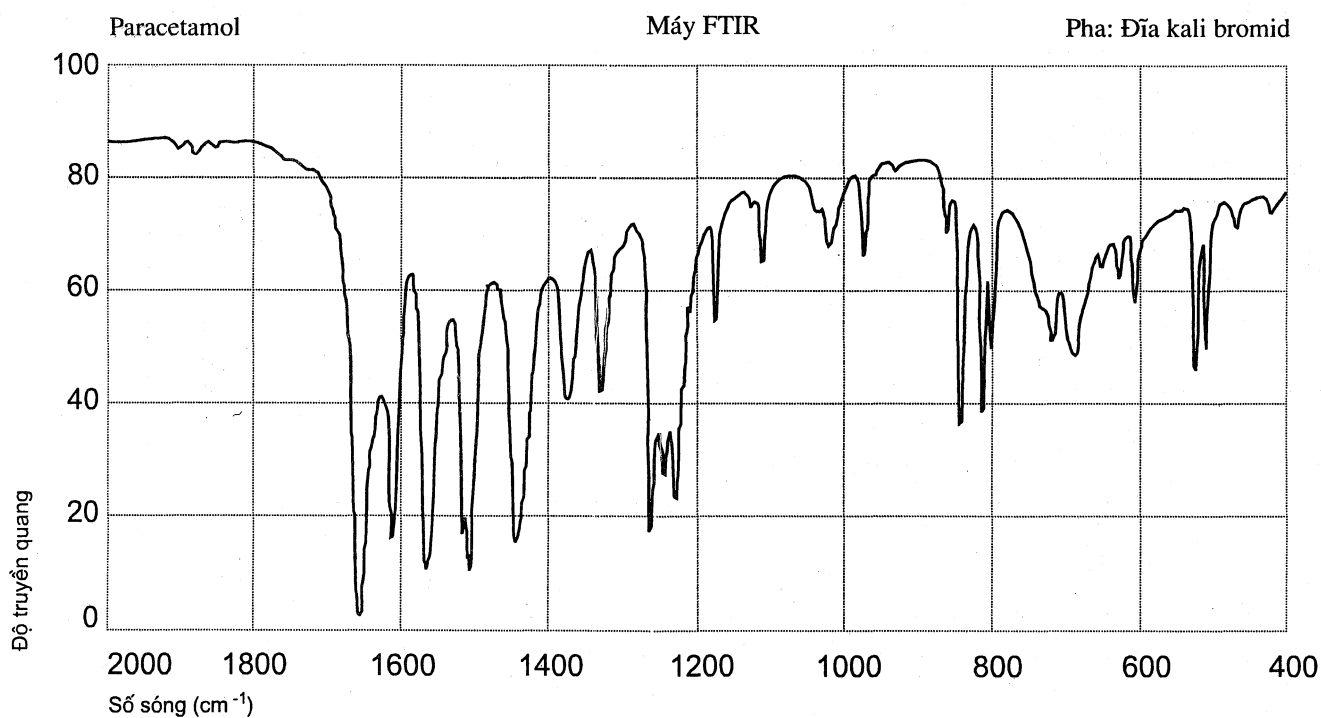
PĐC 109: Nifedipin**PĐC 110: Nikethamid**

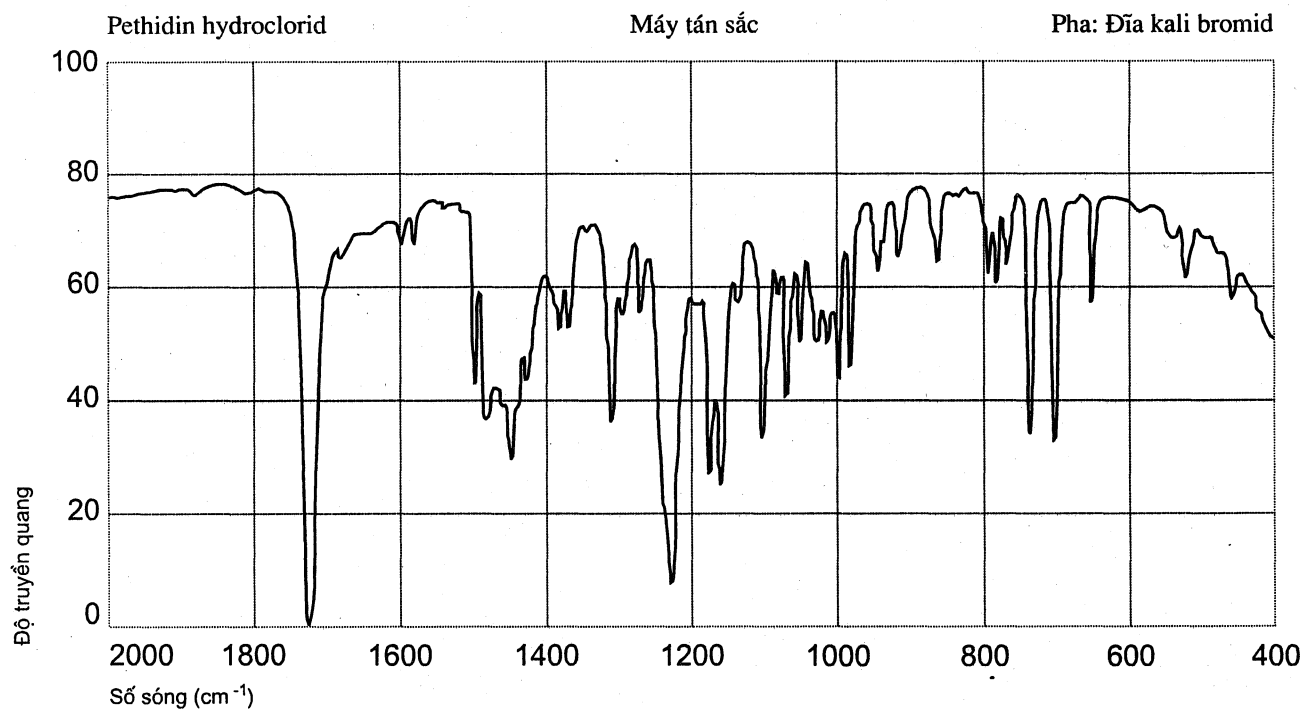
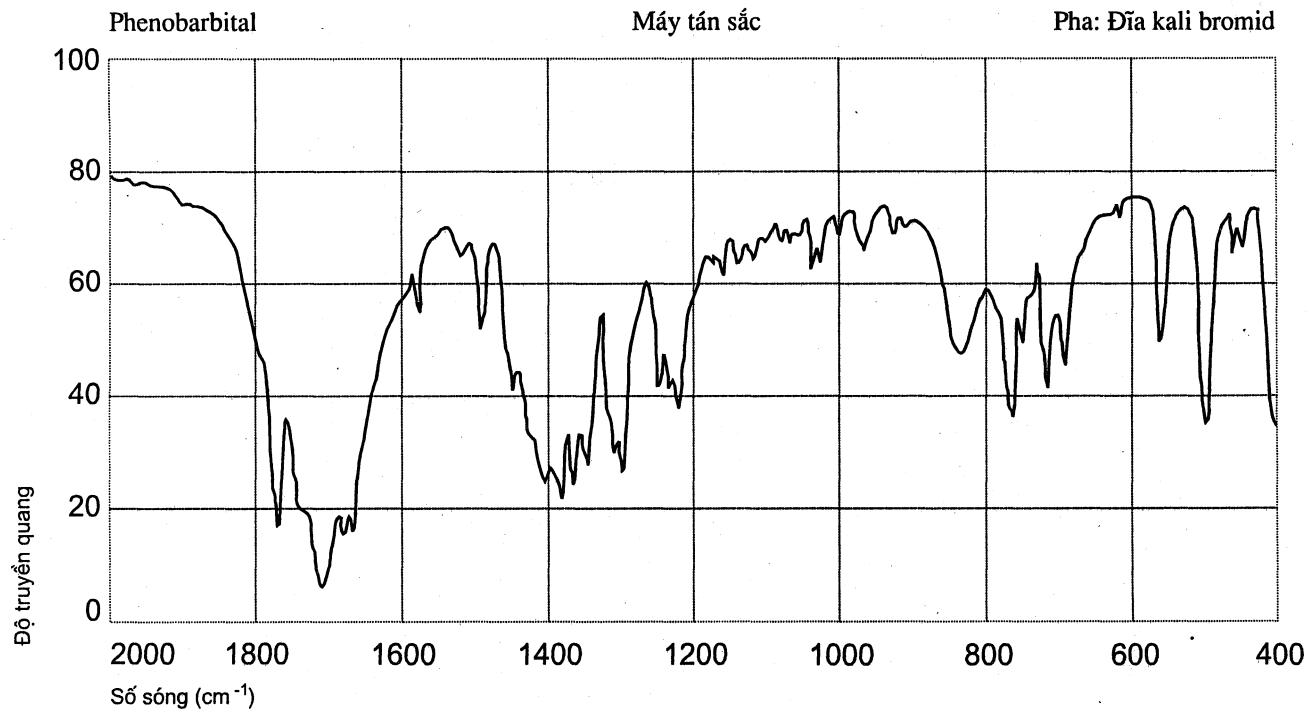
PĐC 111: Norfloxacin

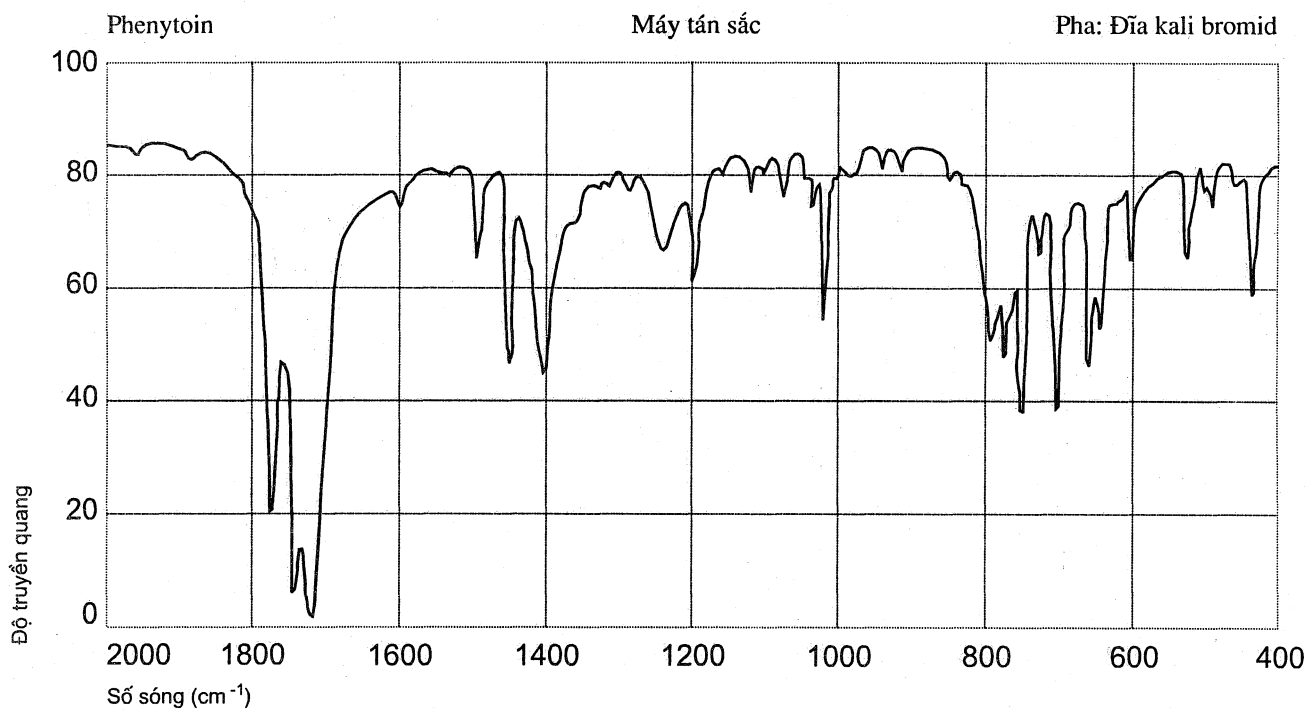
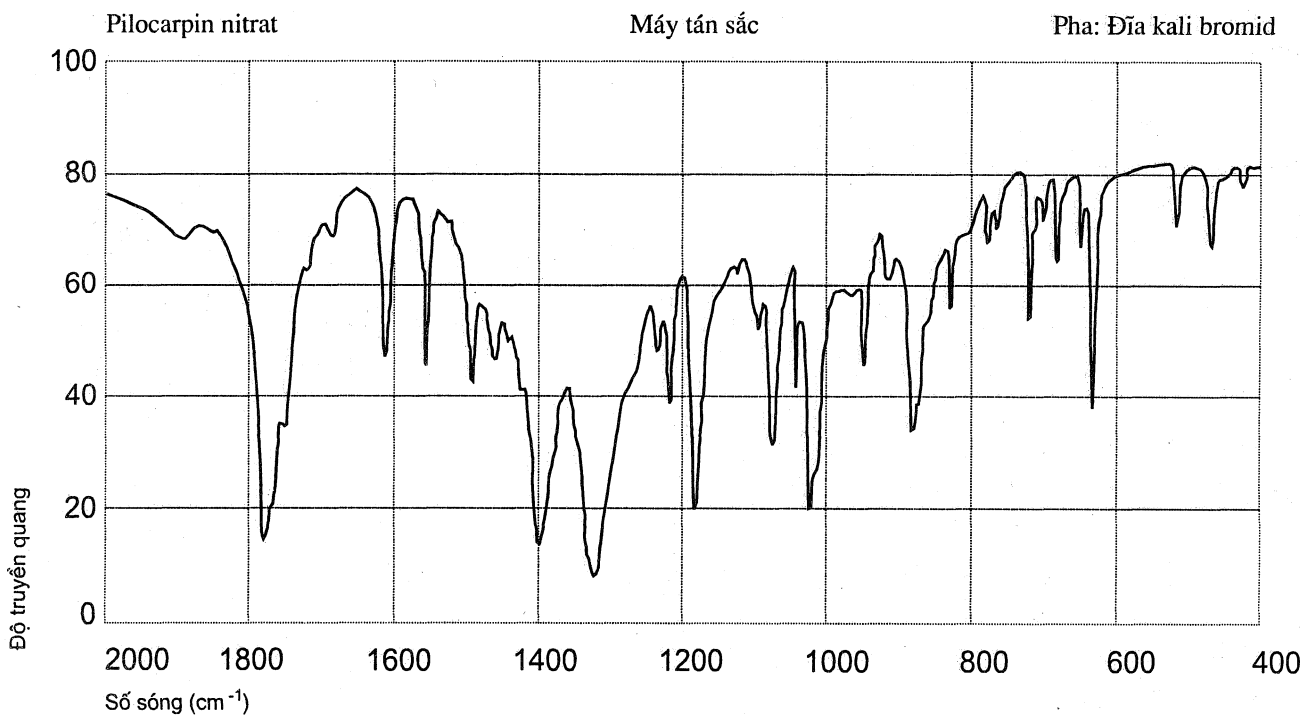


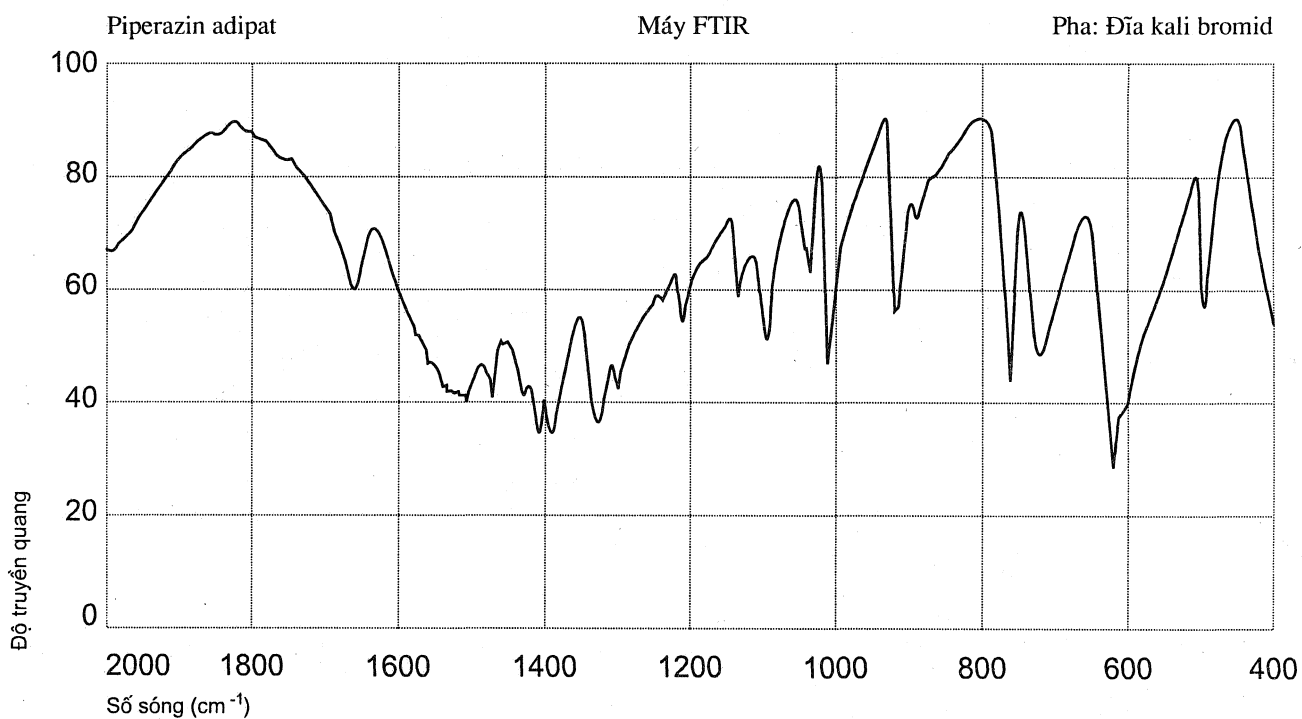
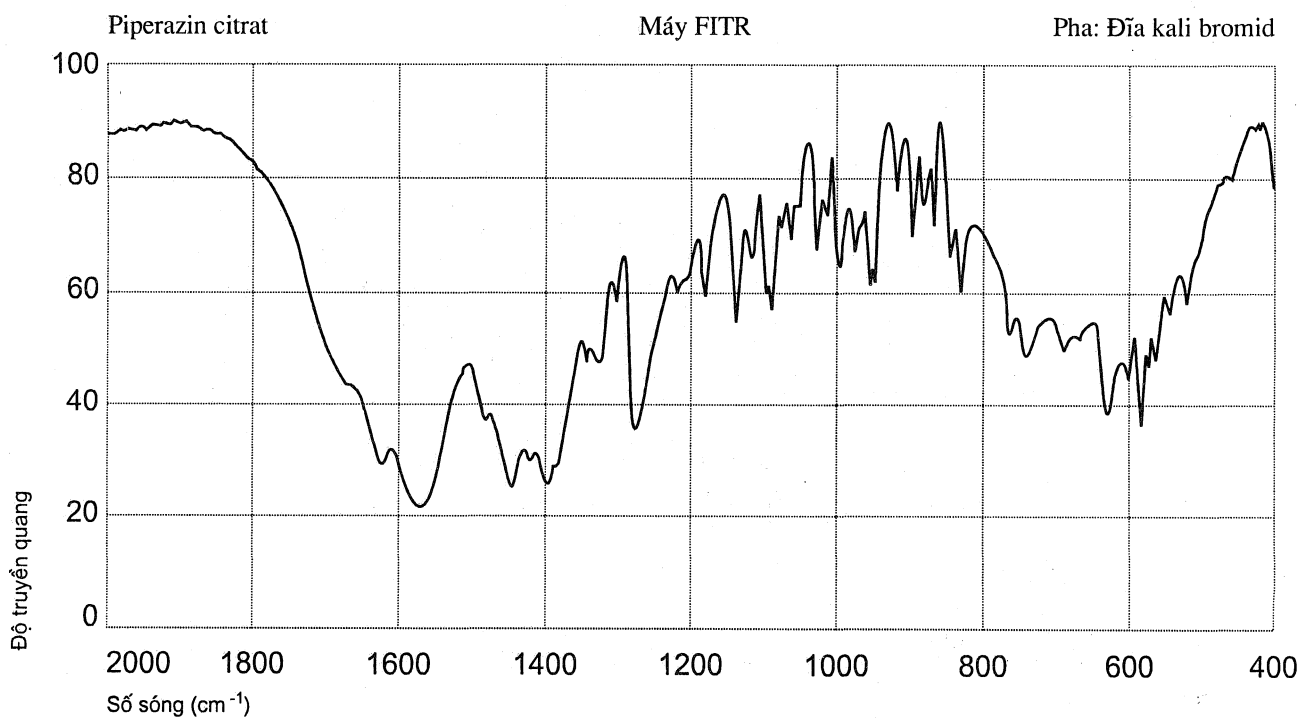
PĐC 112: Ofloxacin

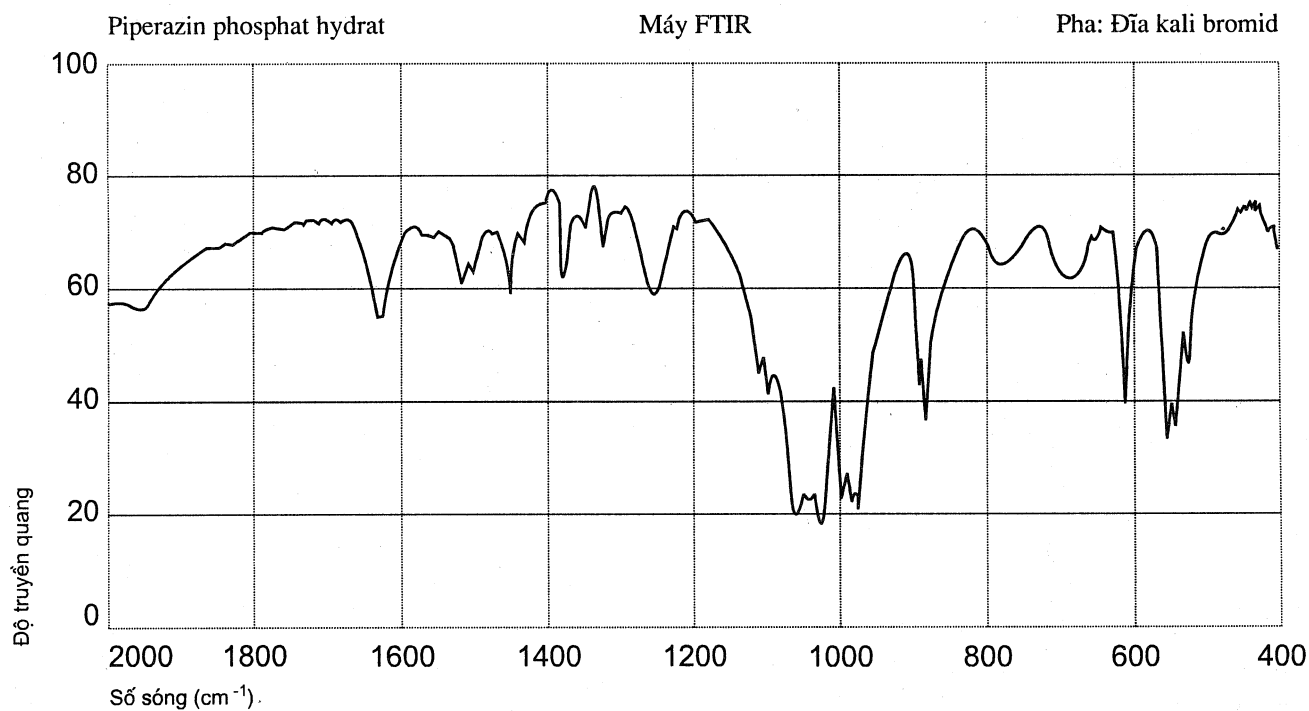
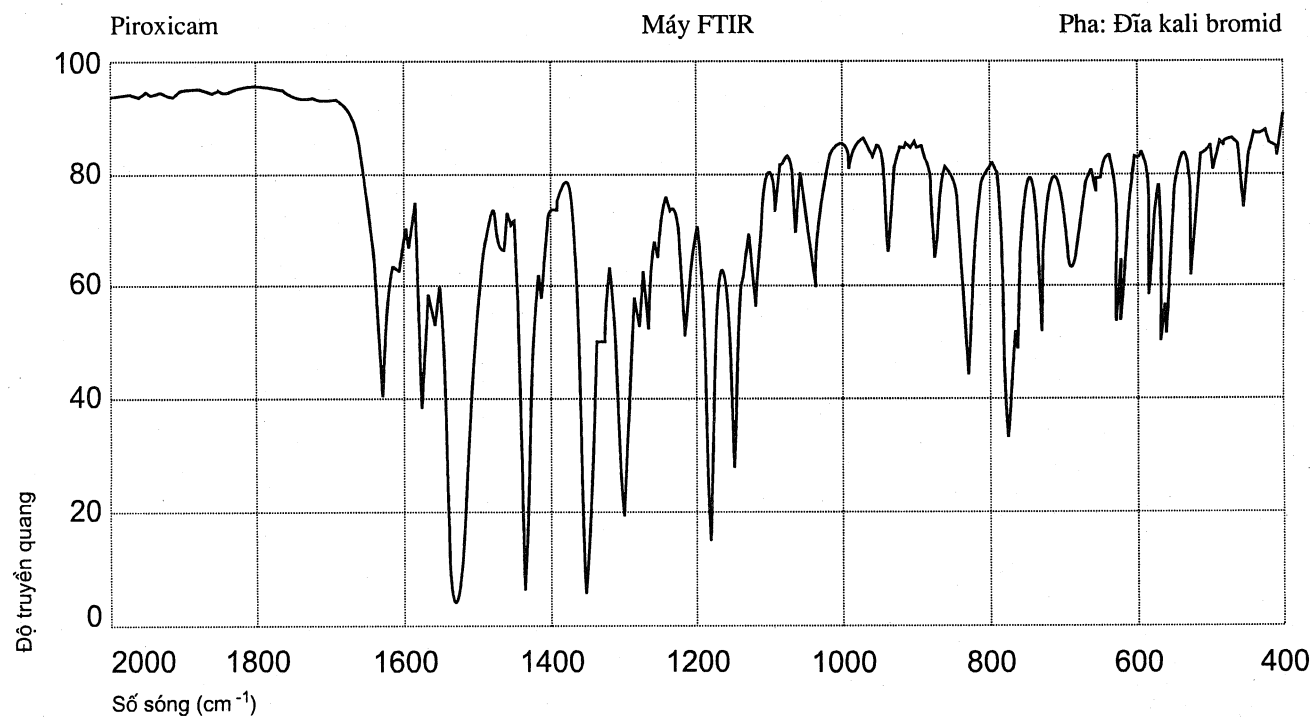


PĐC 113: Omeprazol**PĐC 114: Paracetamol**

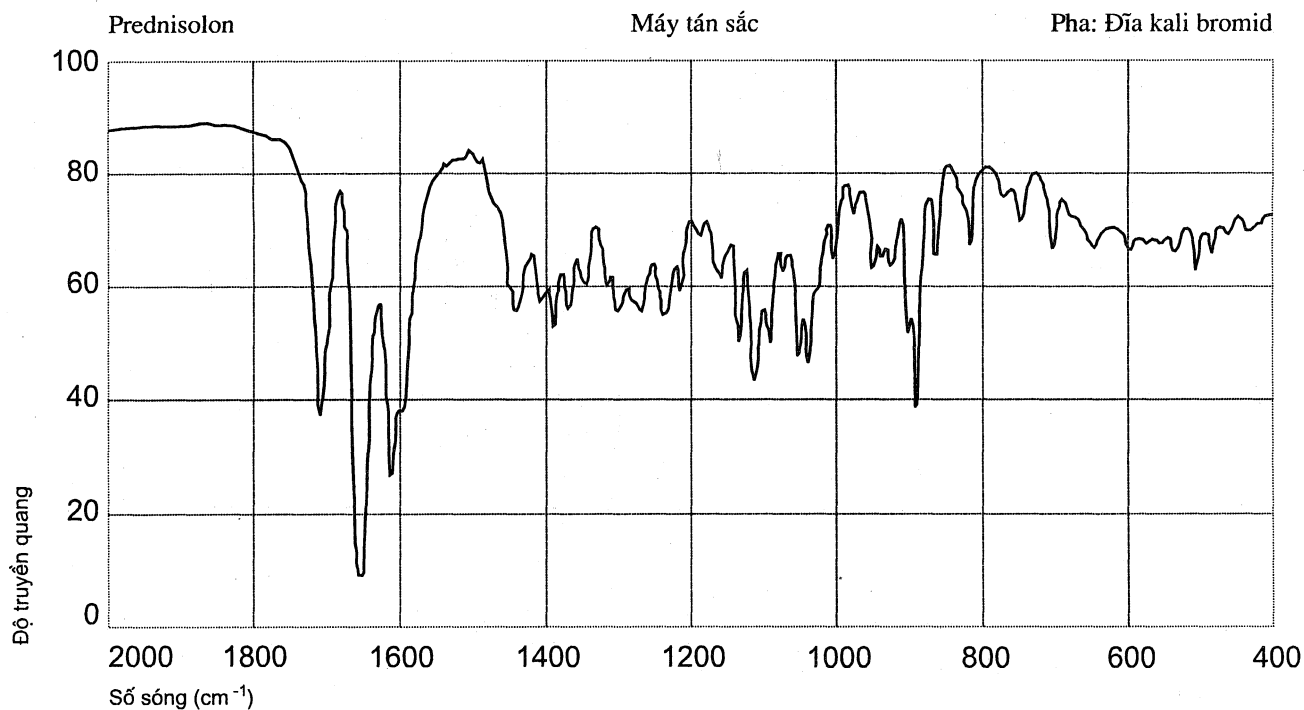
PĐC 115: Pethidin hydroclorid**PĐC 116: Phenobarbital**

PĐC 117: Phenytoin**PĐC 118: Pilocarpin nitrat**

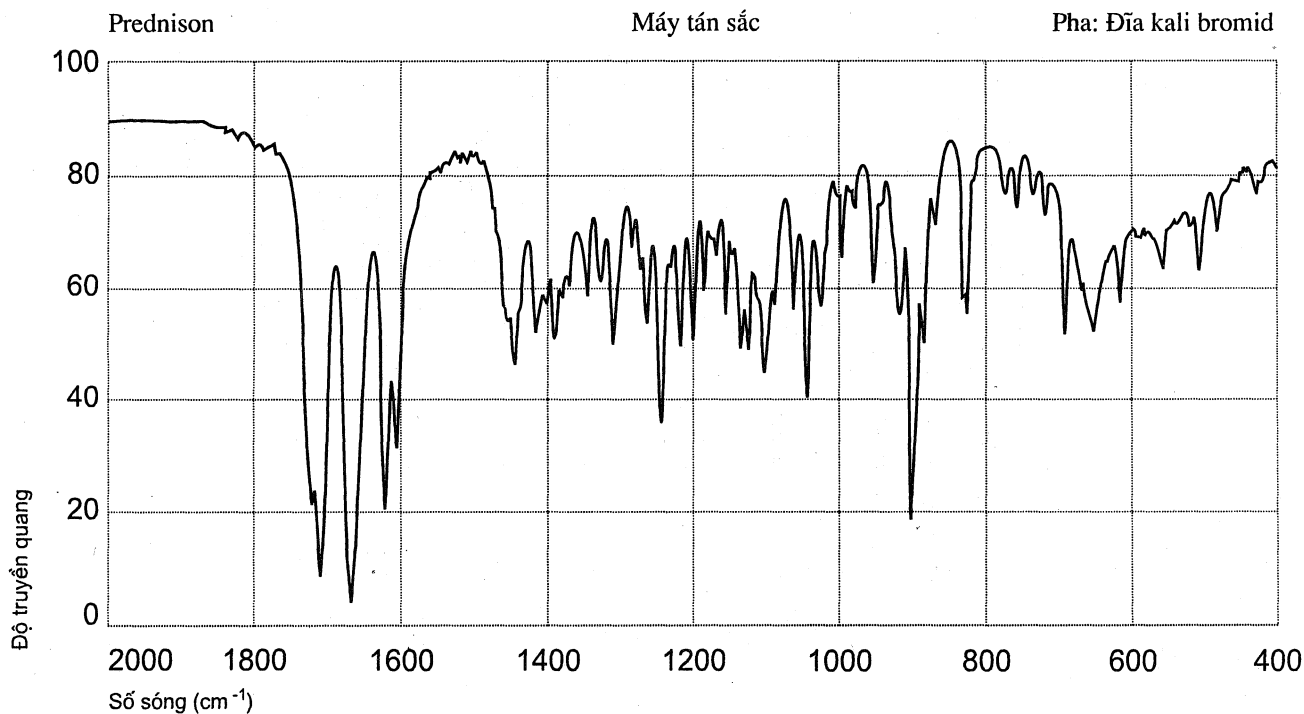
PĐC 119: Piperazin adipat**PĐC 120: Piperazin citrat**

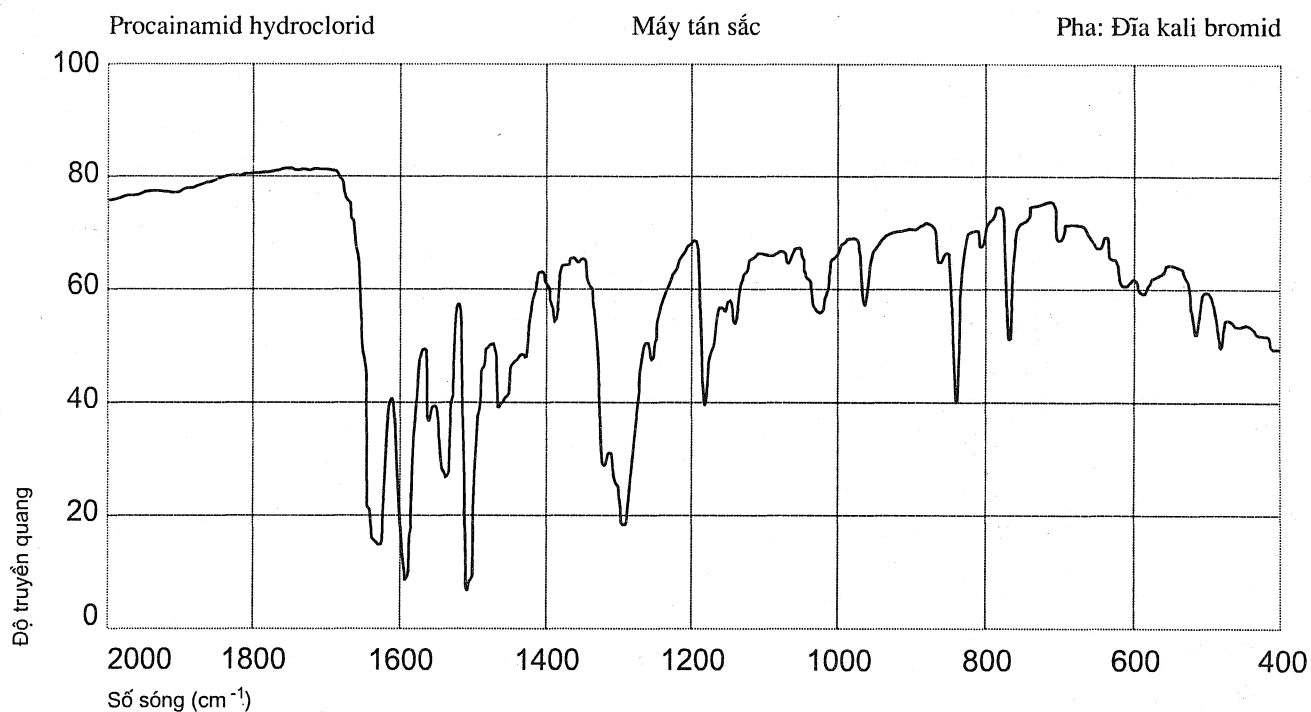
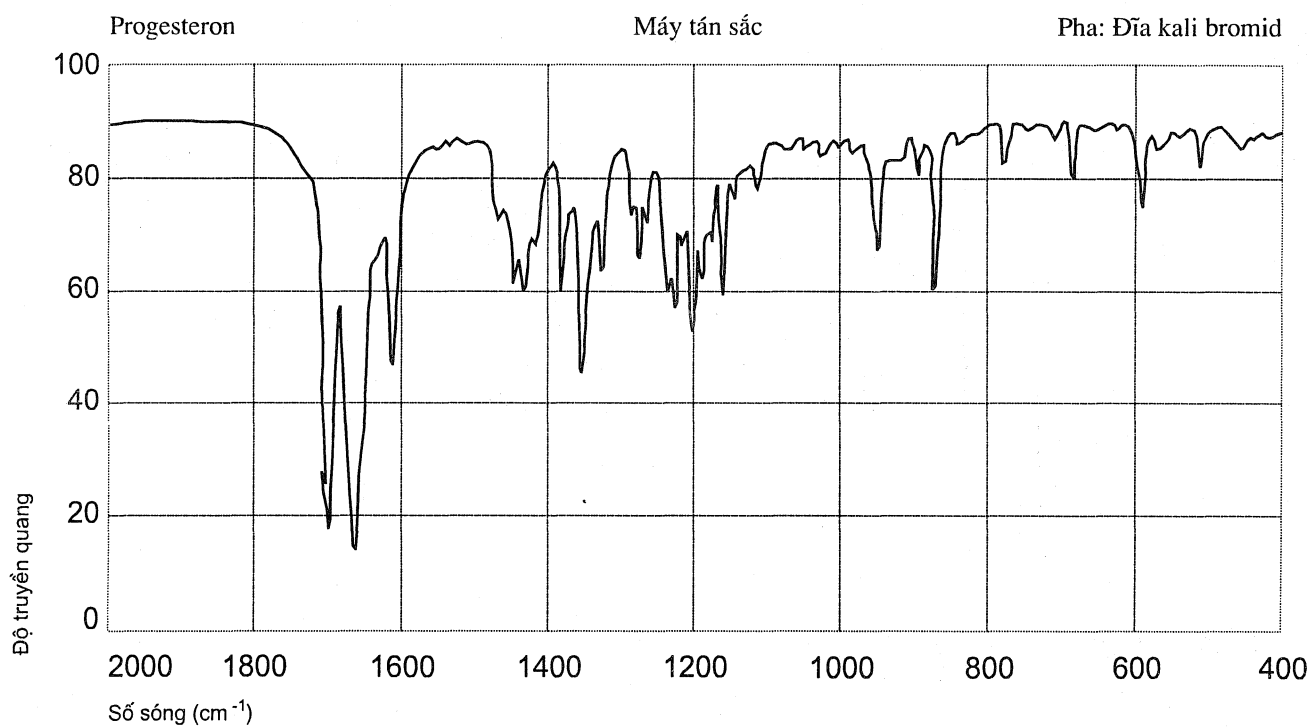
PĐC 121: Piperazin phosphat hydrat**PĐC 122: Piroxicam**

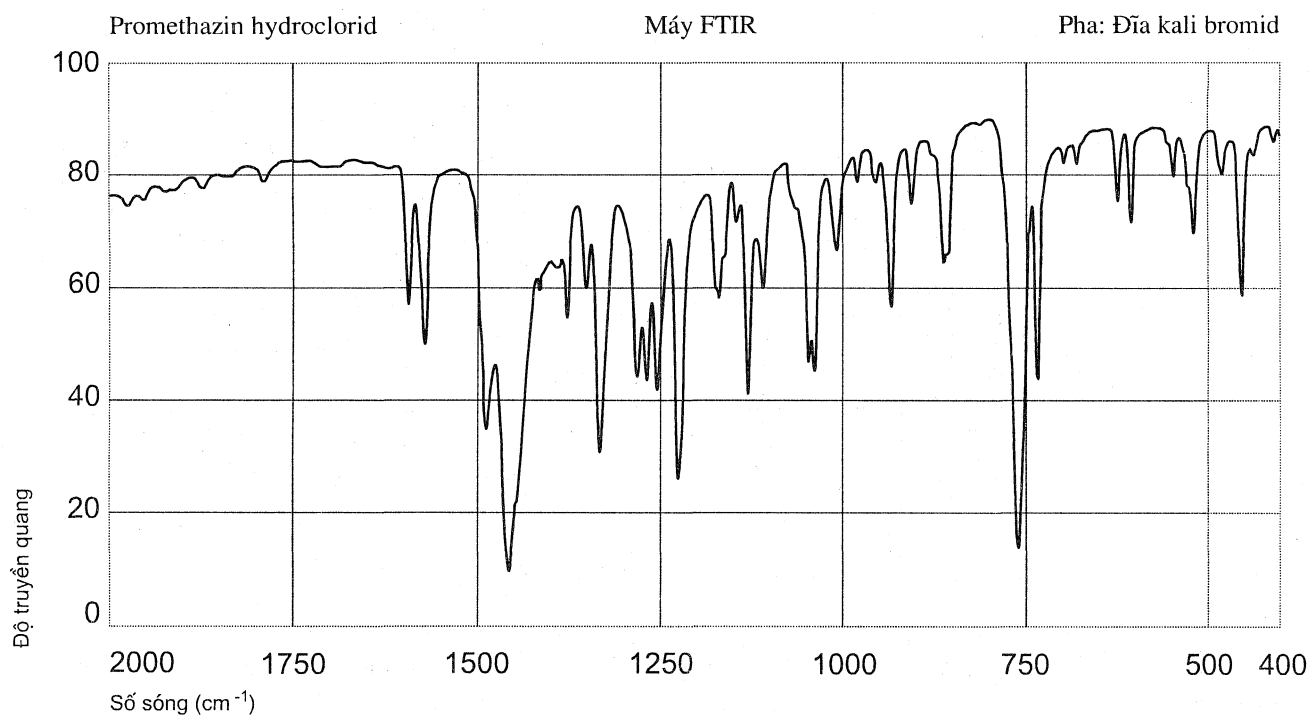
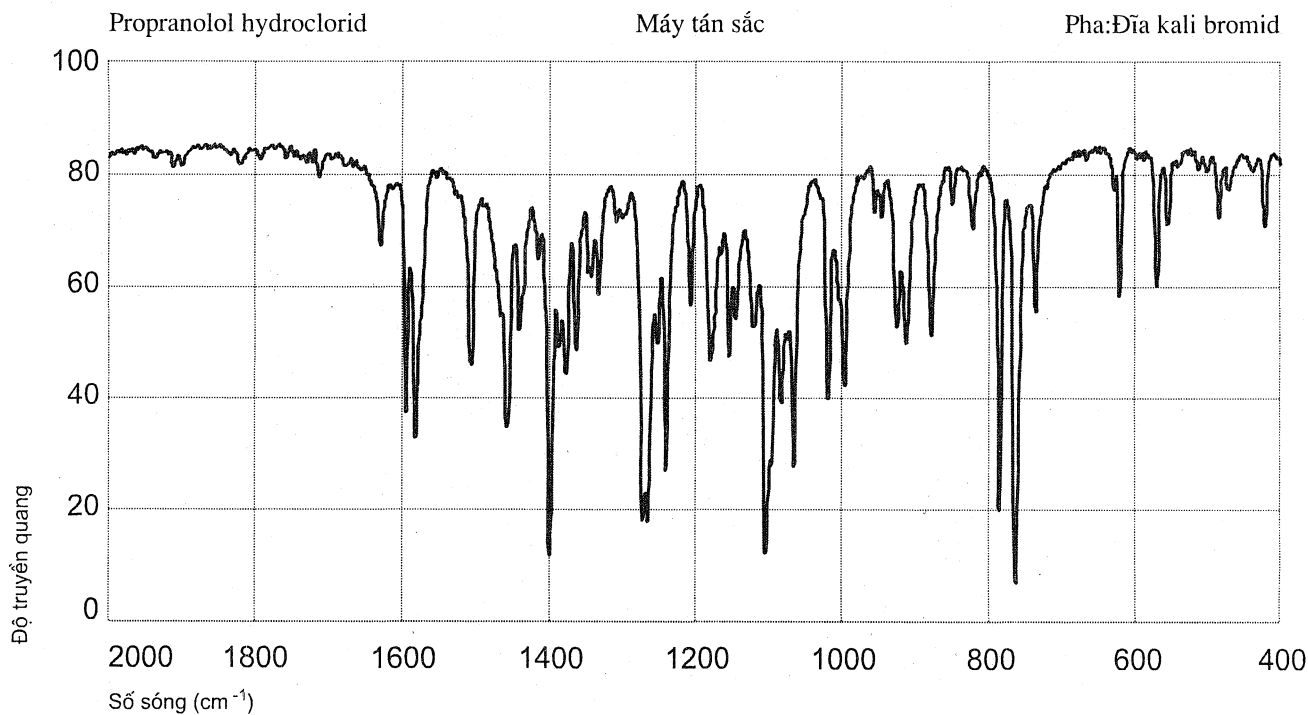
PĐC 123: Prednisolon

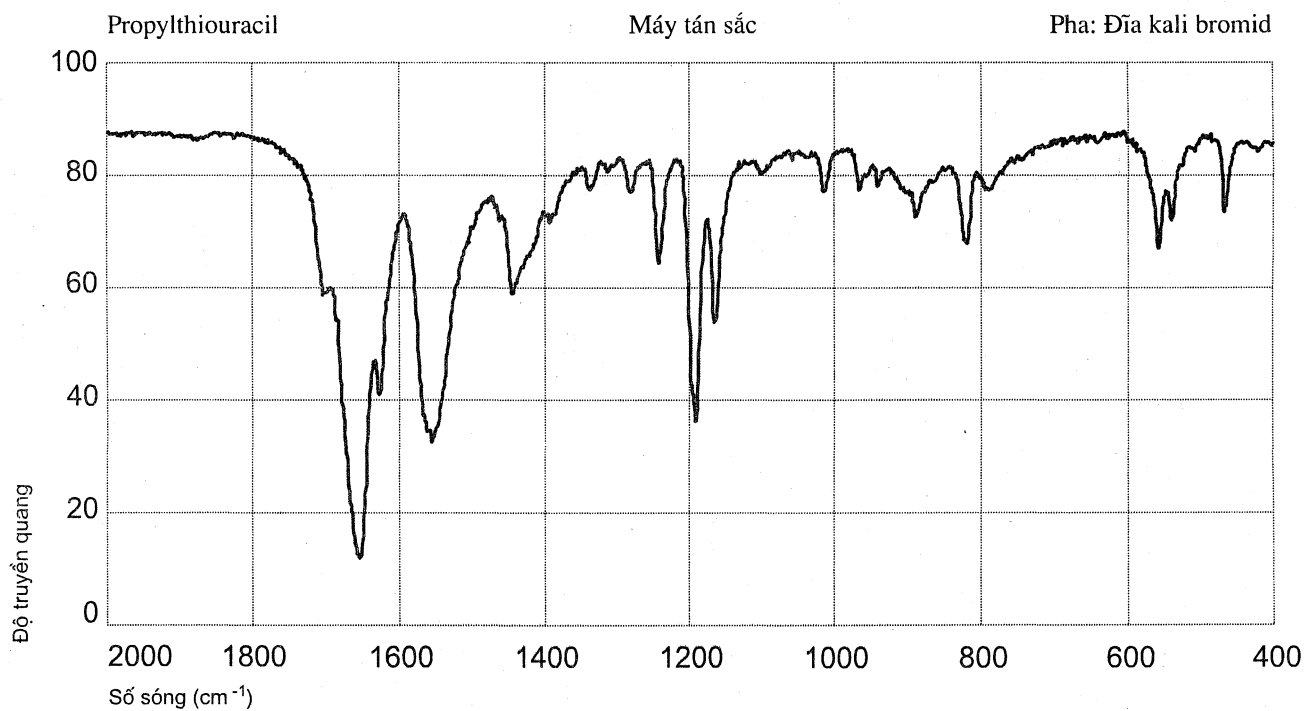
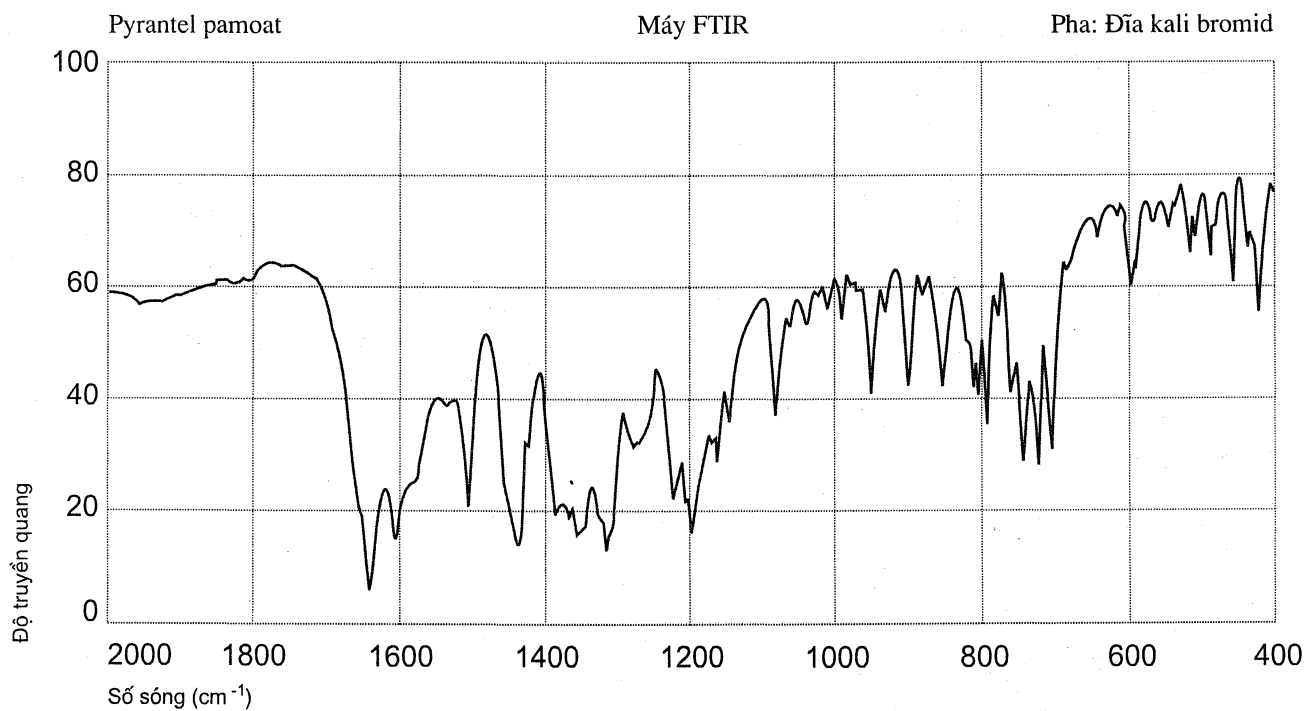


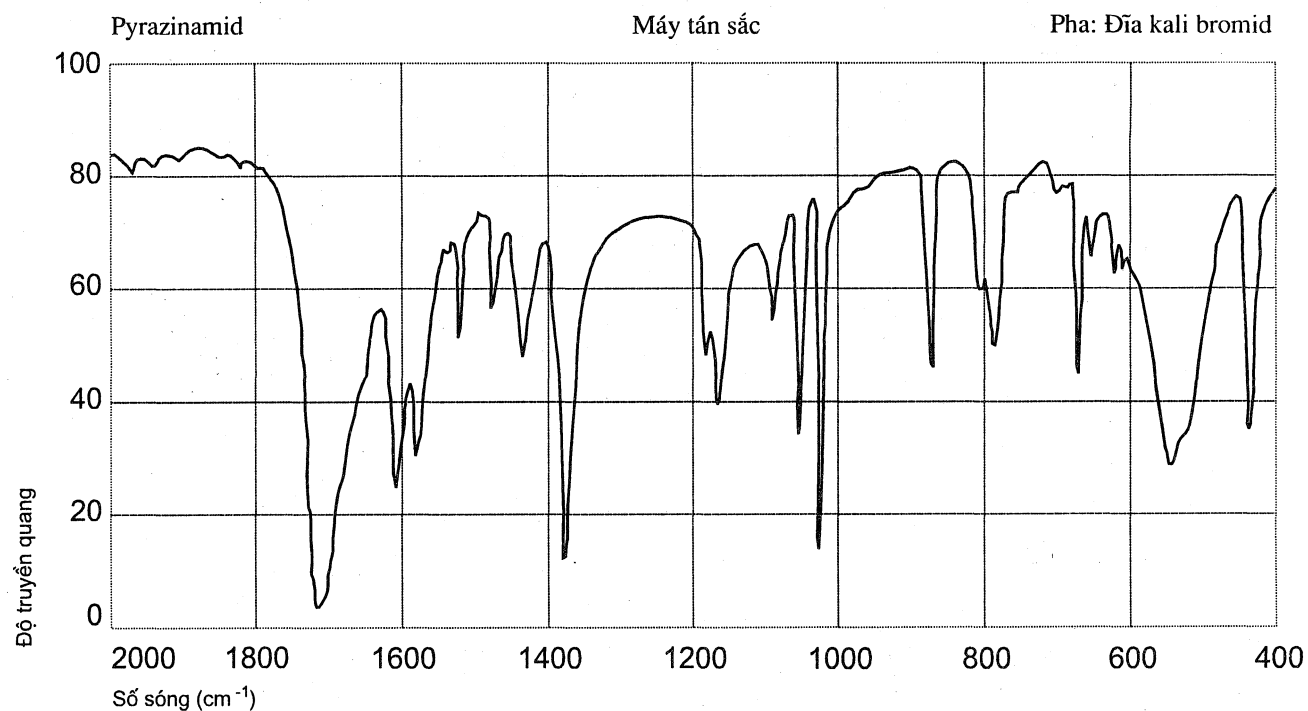
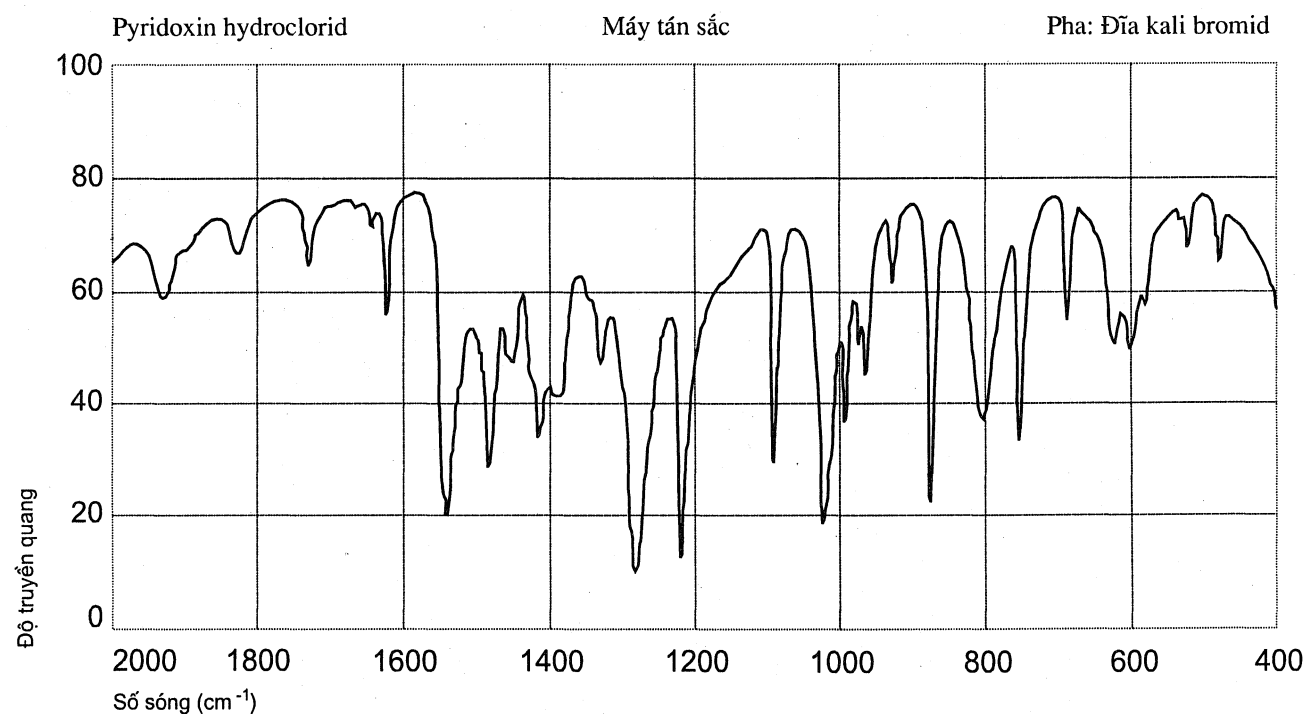
PĐC 124: Prednison

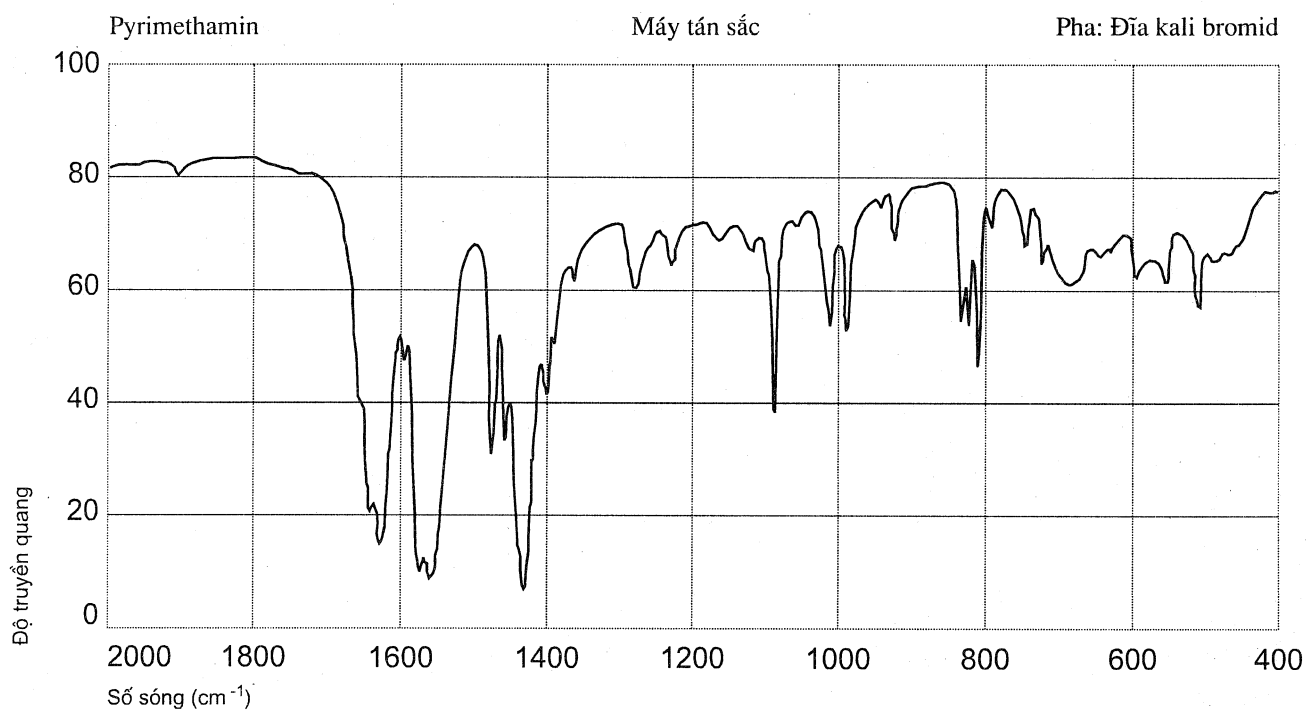
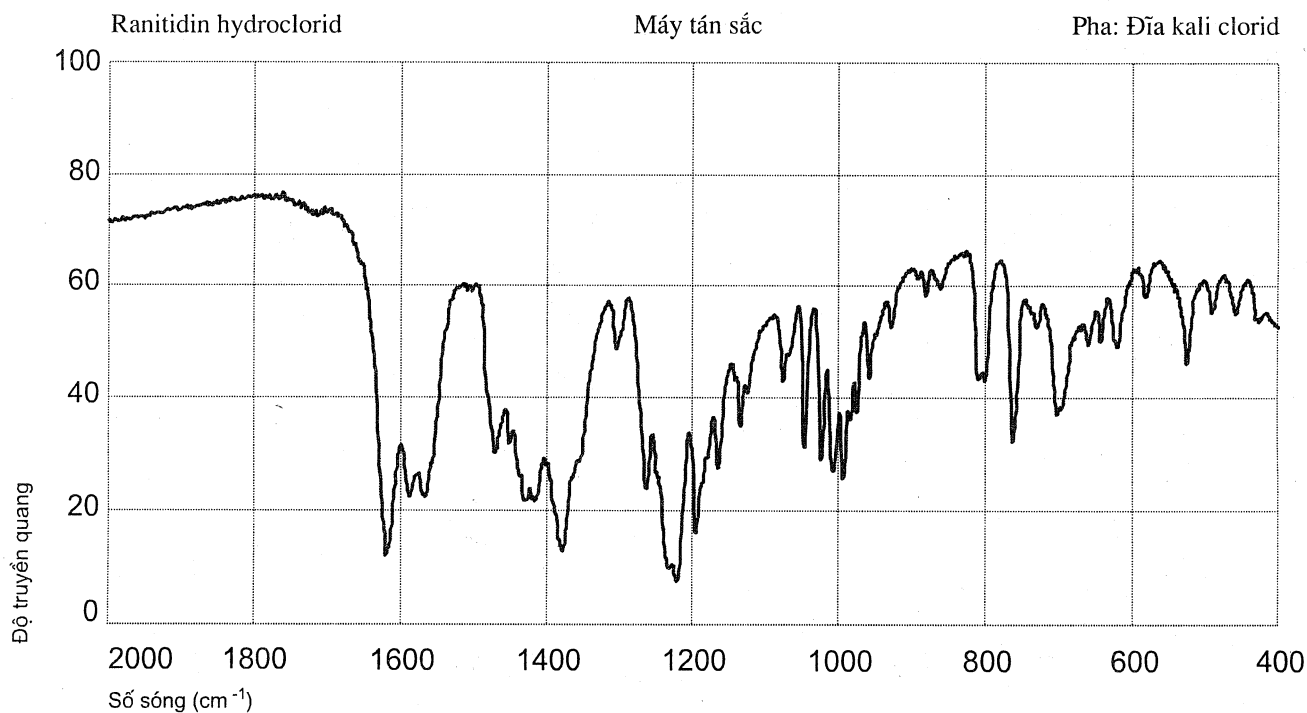


PĐC 125: Procainamid hydroclorid**PĐC 126: Progesteron**

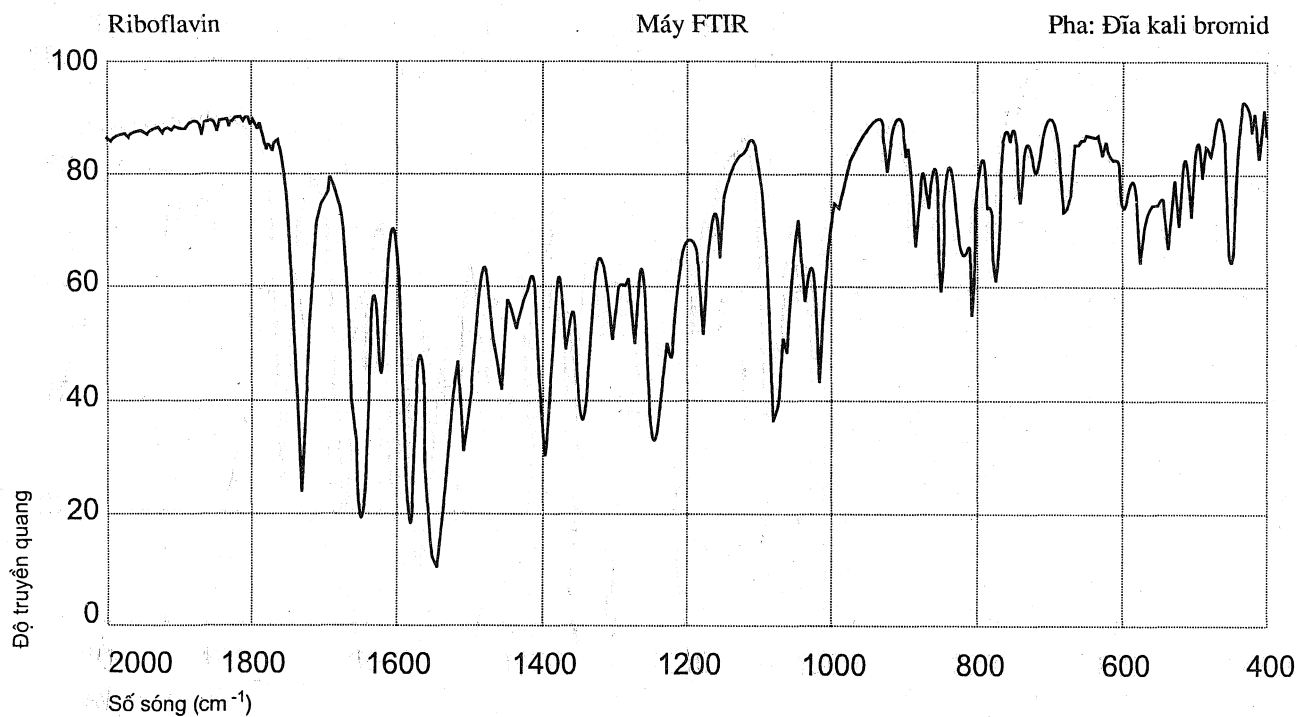
PĐC 127: Promethazin hydroclorid**PĐC 128: Propranolol hydroclorid**

PĐC 129: Propylthiouracil**PĐC 130: Pyrantel pamoat**

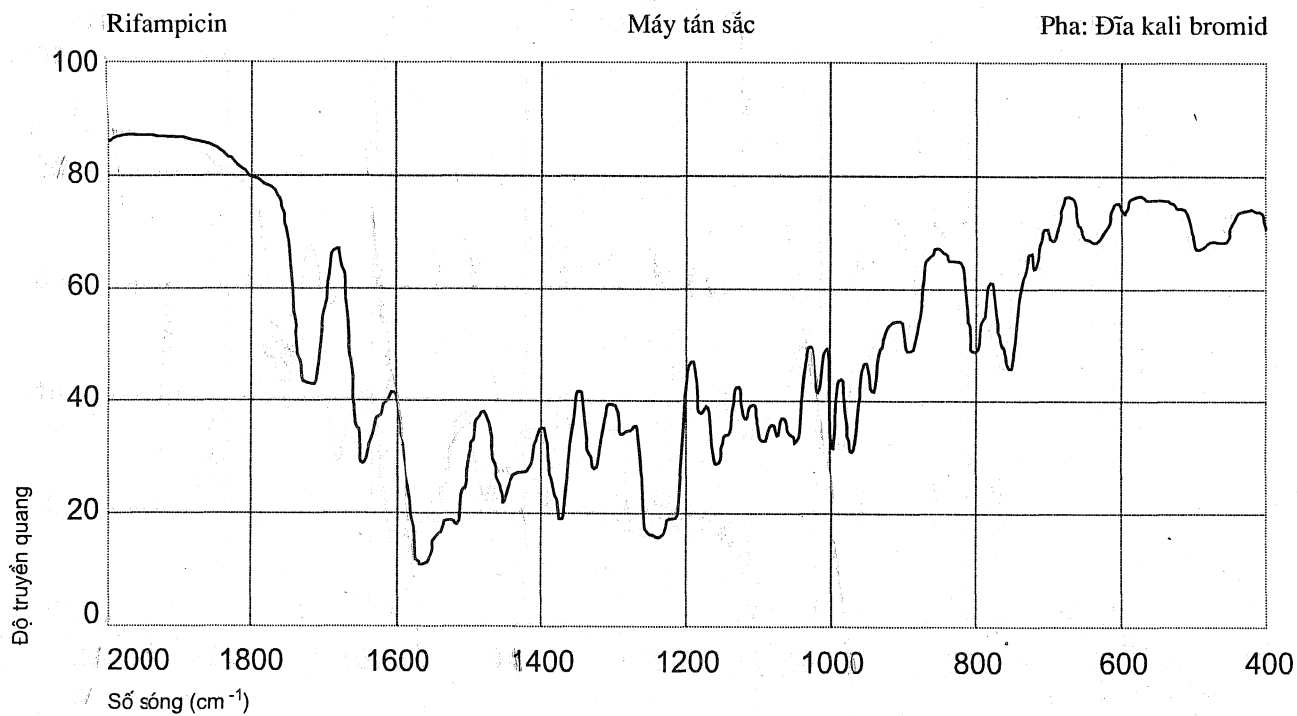
PĐC 131: Pyrazinamid**PĐC 132: Pyridoxin hydroclorid**

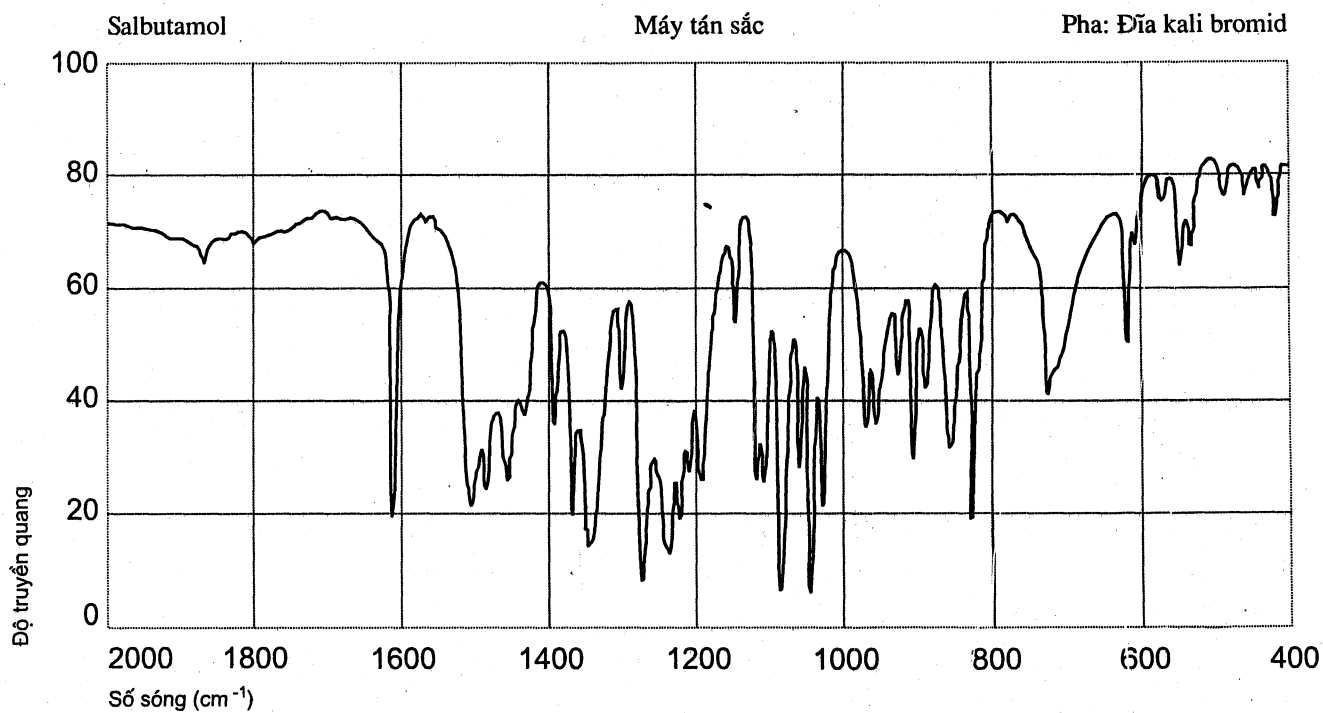
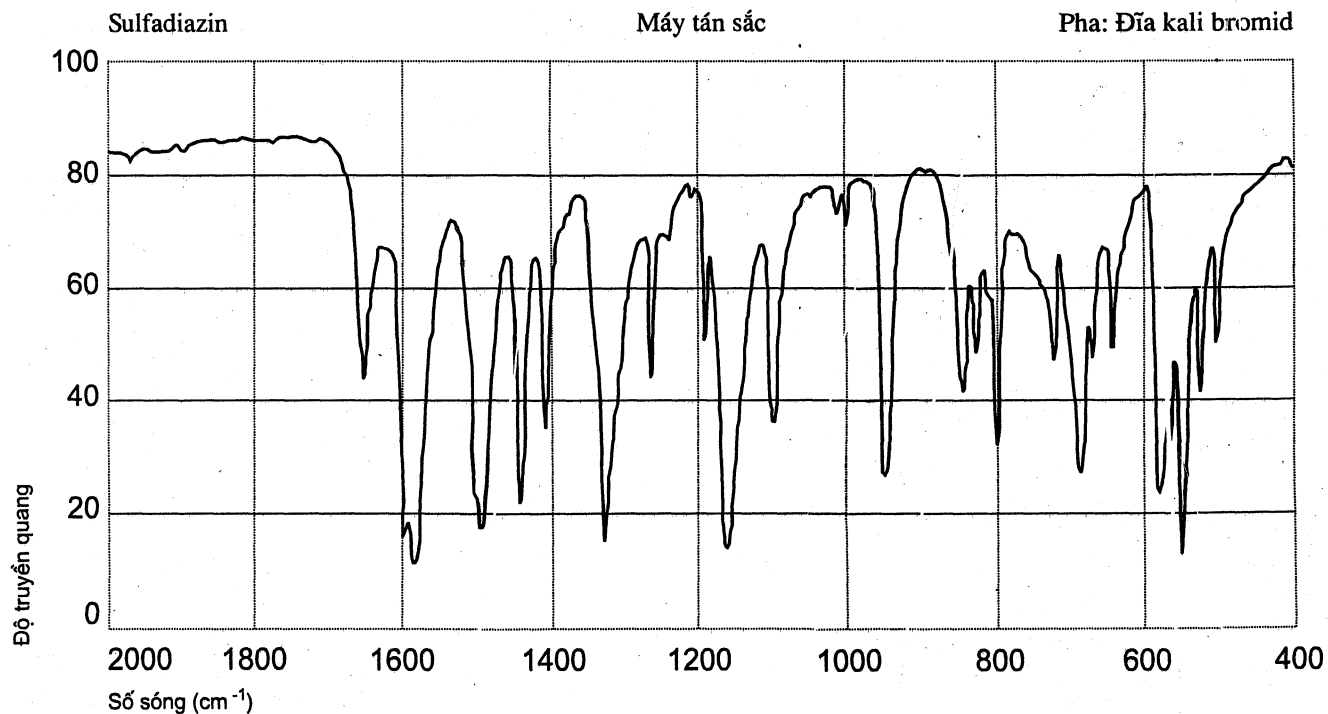
PĐC 133: Pyrimethamin**PĐC 134: Ranitidin hydroclorid**

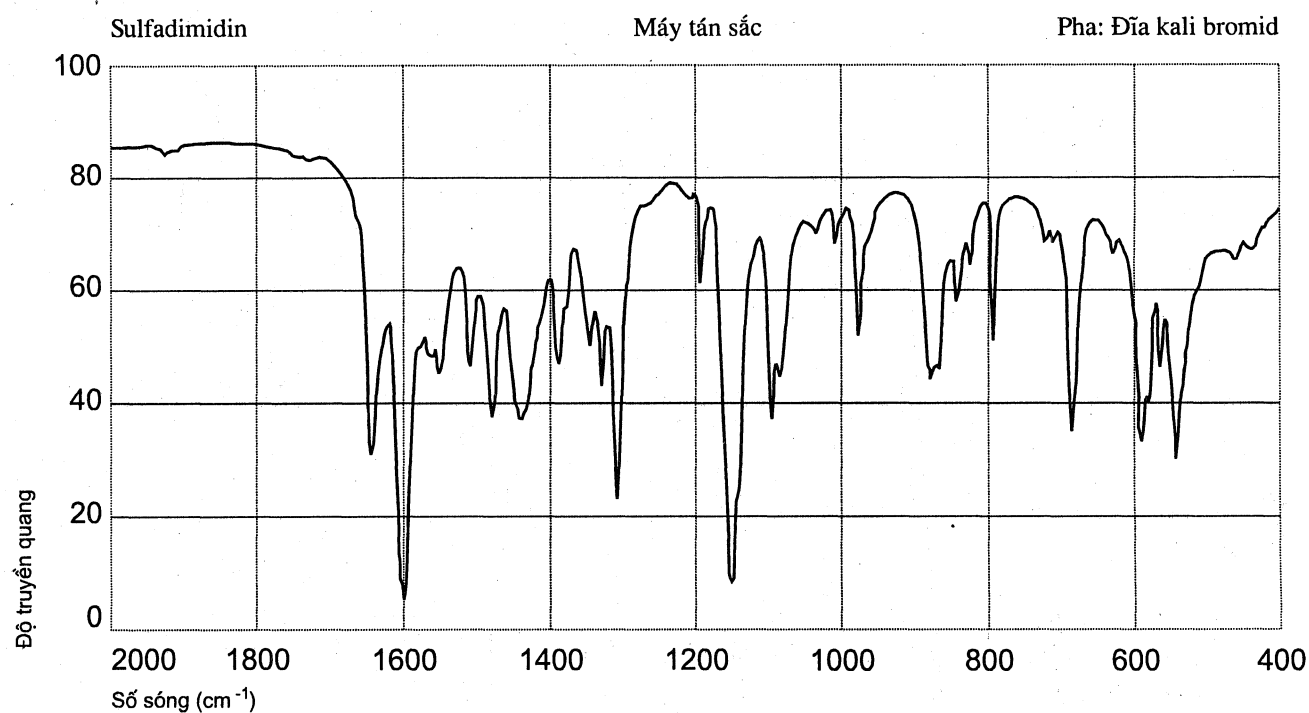
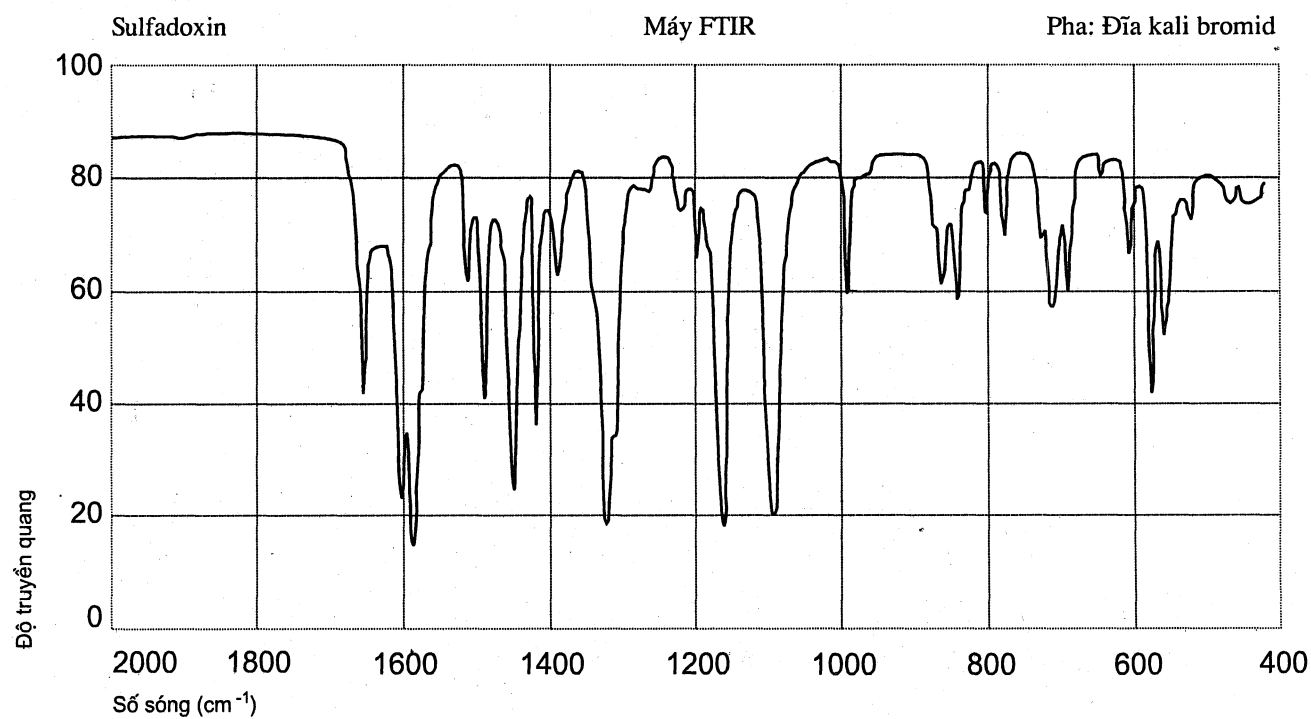
PĐC 135: Riboflavin

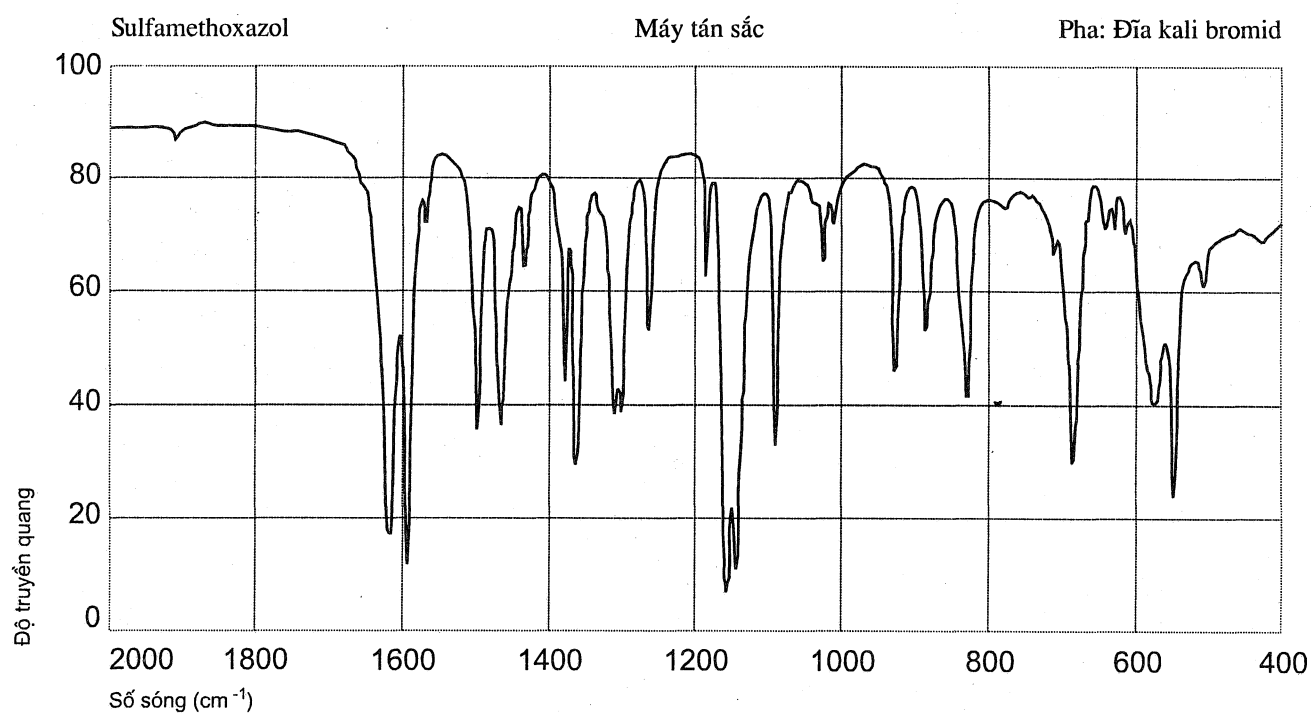
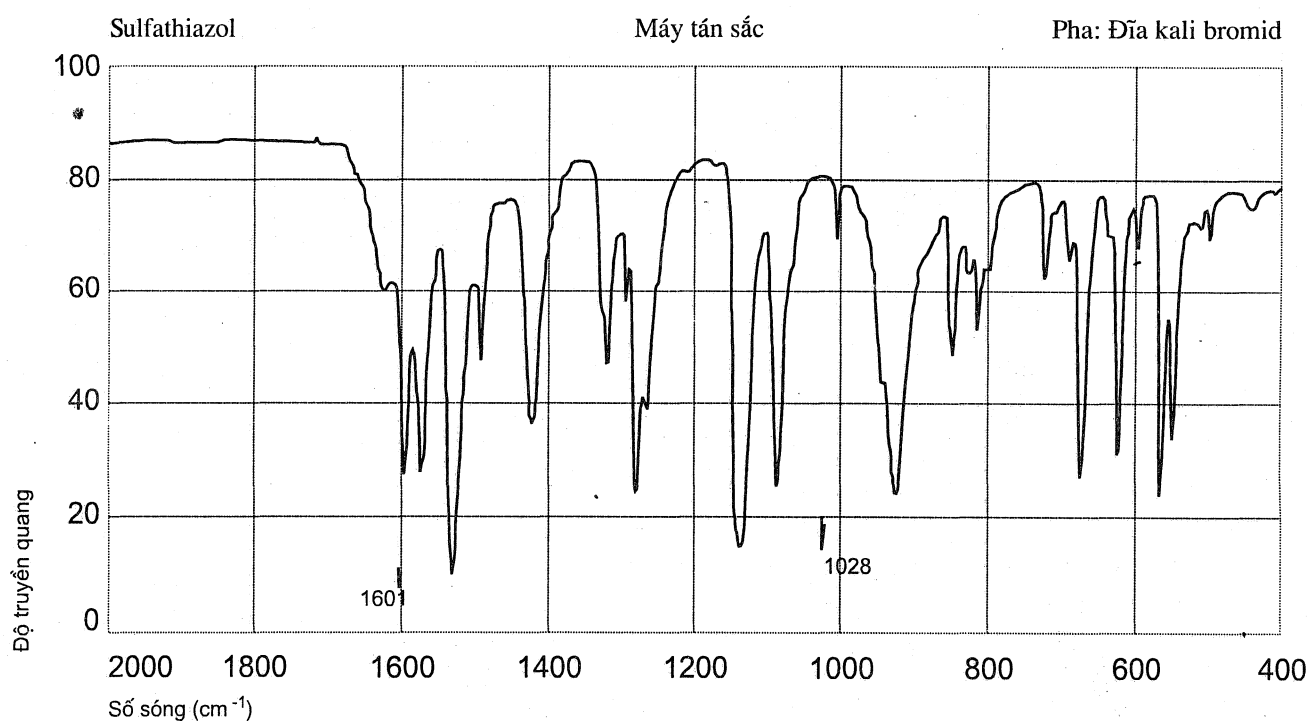


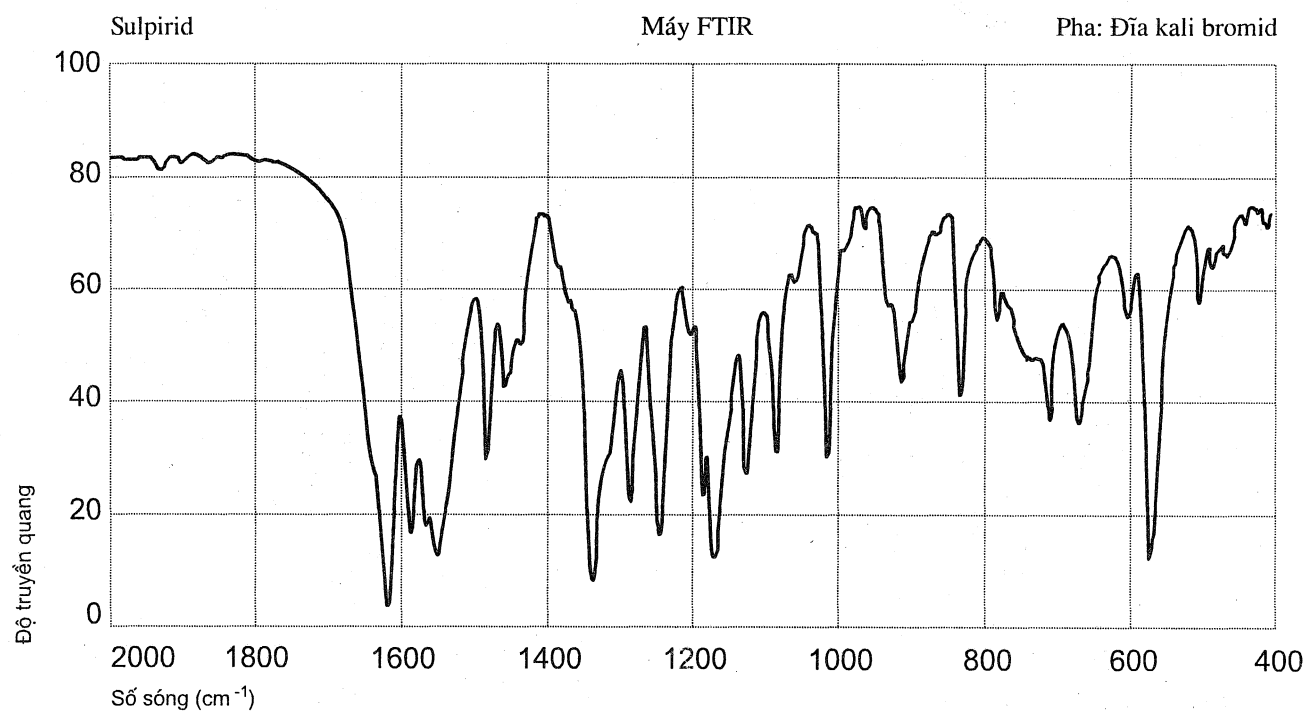
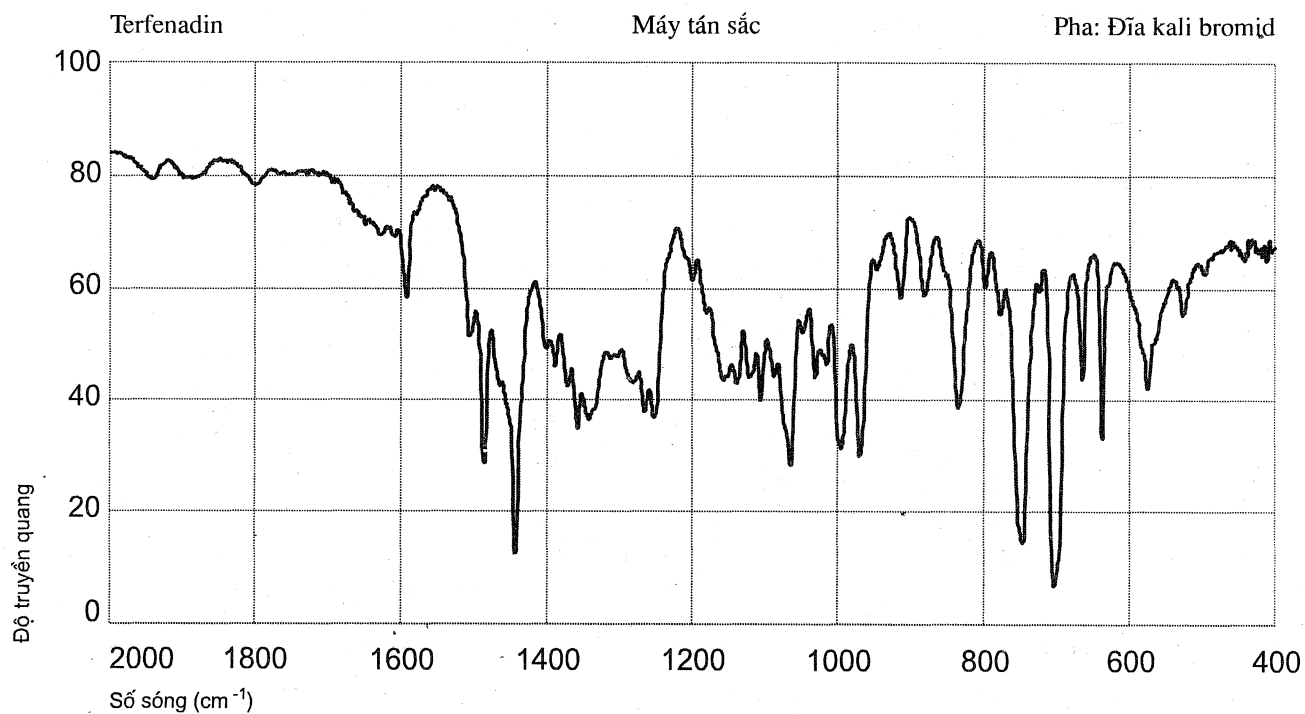
PĐC 136: Rifampicin

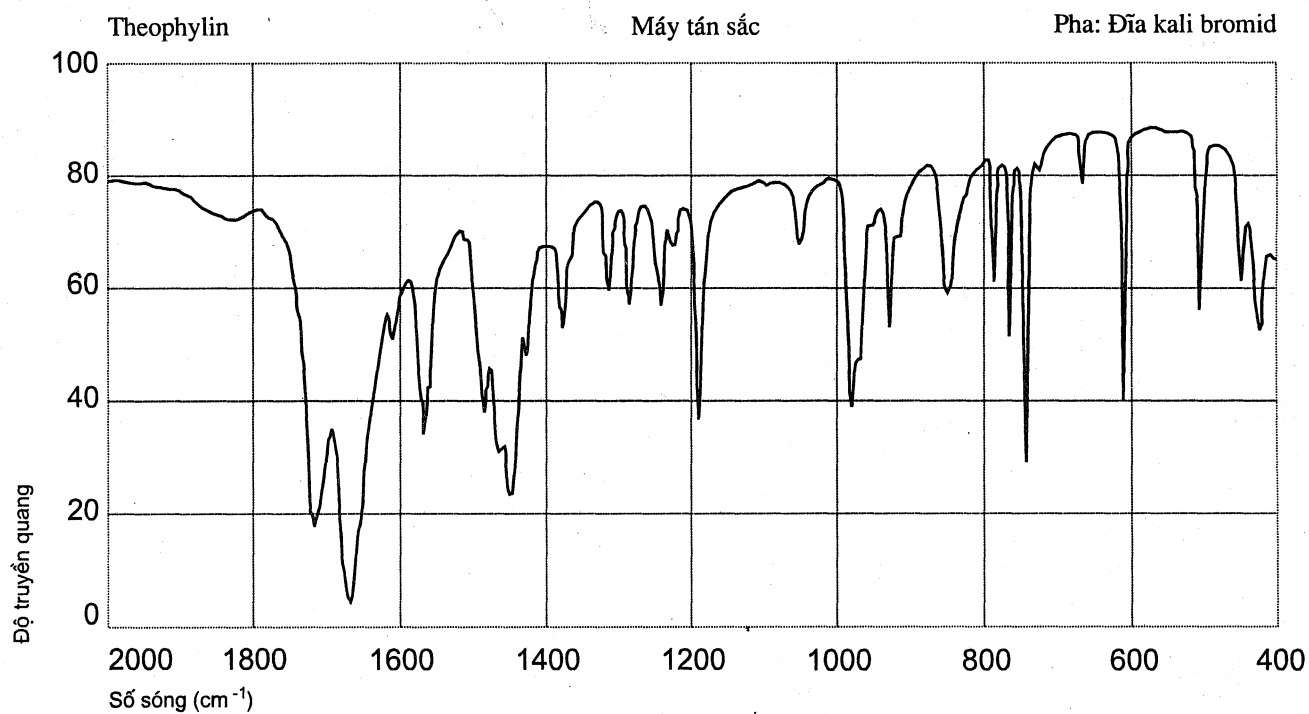
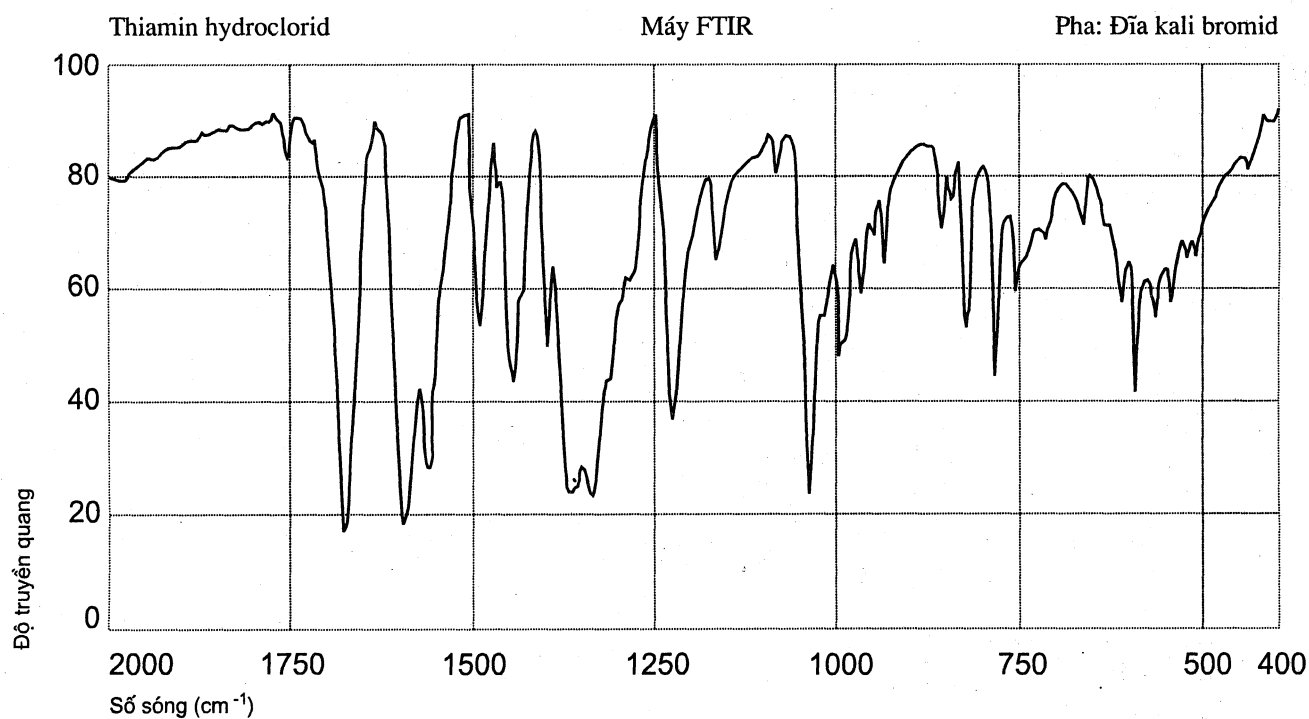


PĐC 137: Salbutamol**PĐC 138: Sulfadiazin**

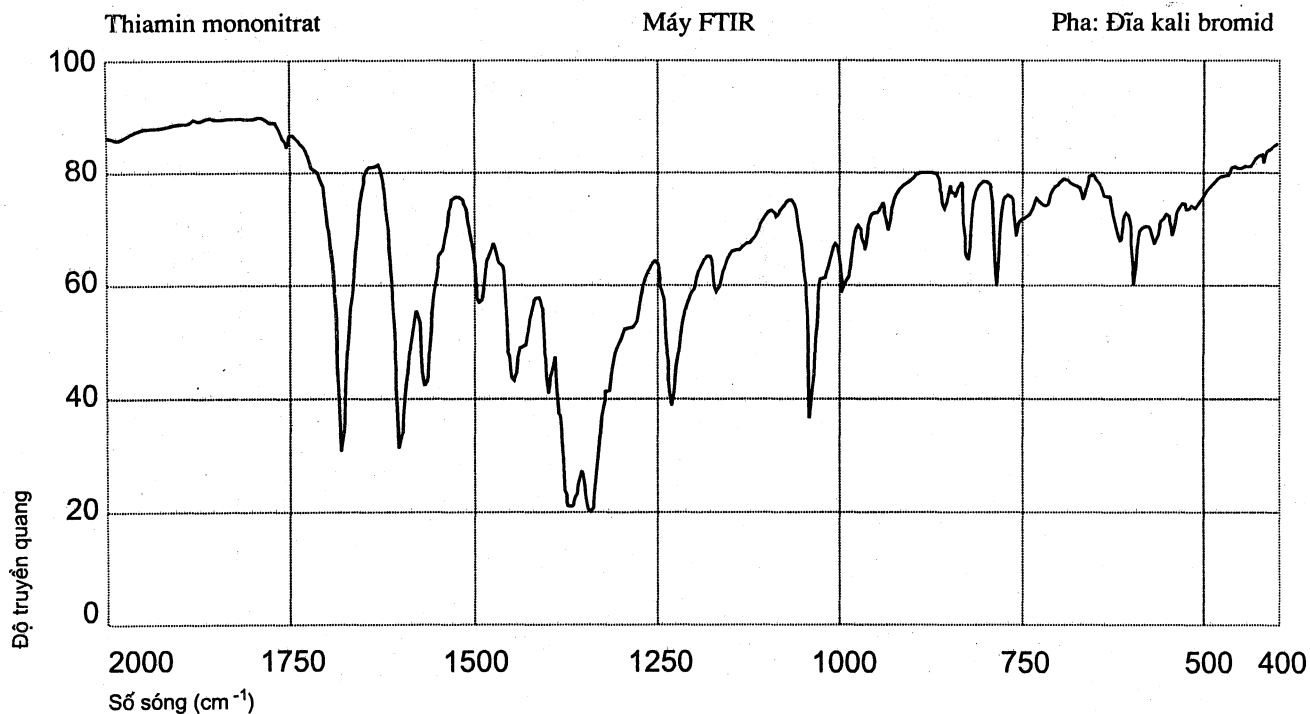
PĐC 139: Sulfadimidin**PĐC 140: Sulfadoxin**

PĐC 141: Sulfamethoxazol**PĐC 142: Sulfathiazol**

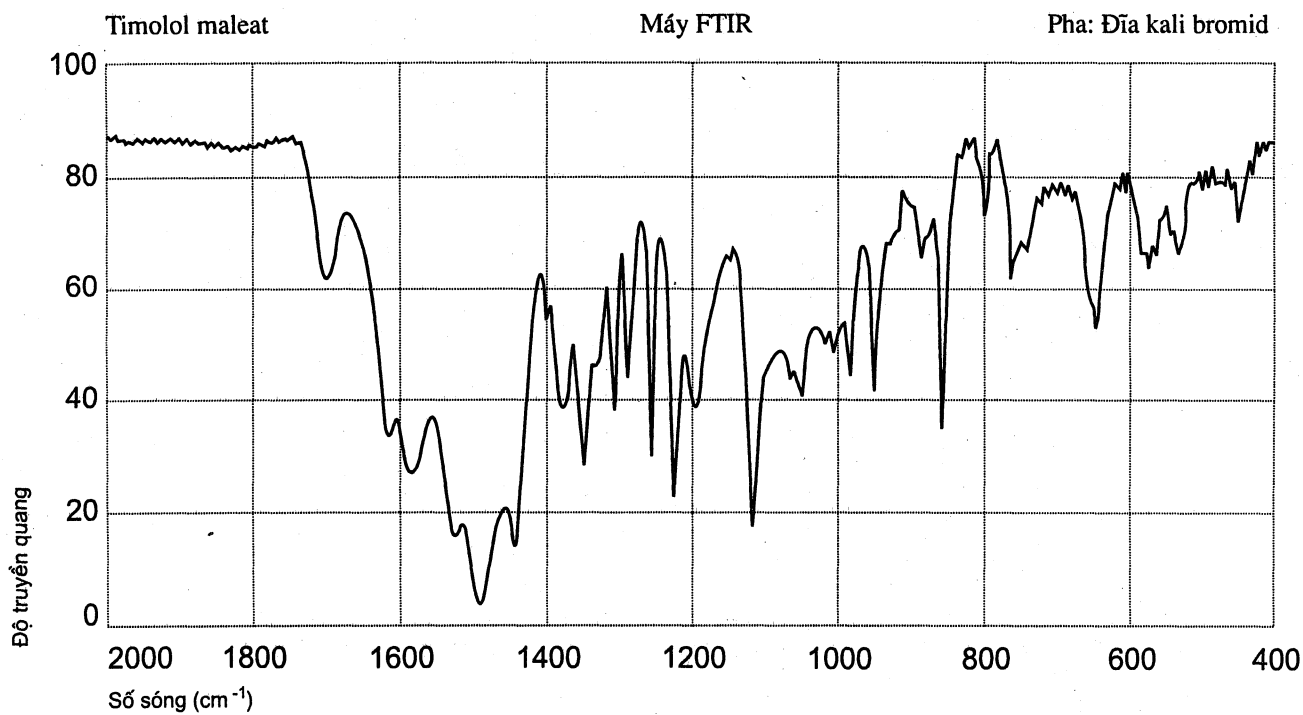
PĐC 143: Sulpirid**PĐC 144: Terfenadin**

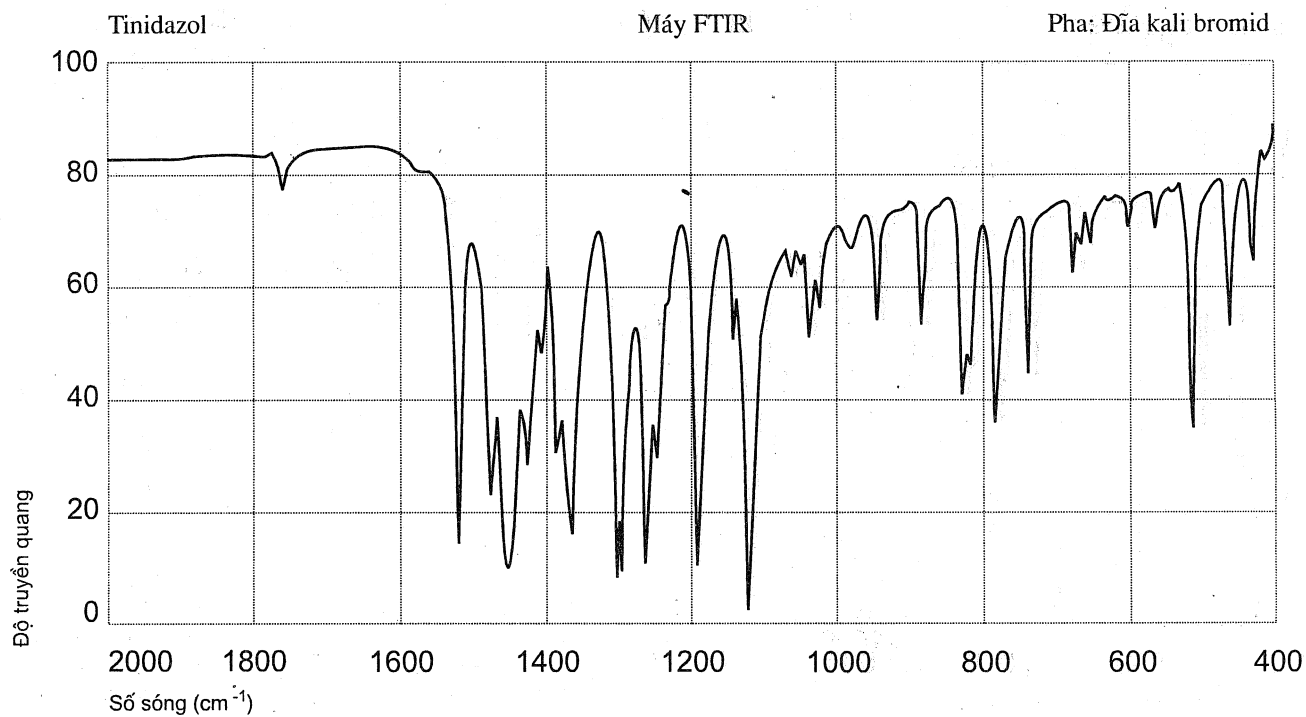
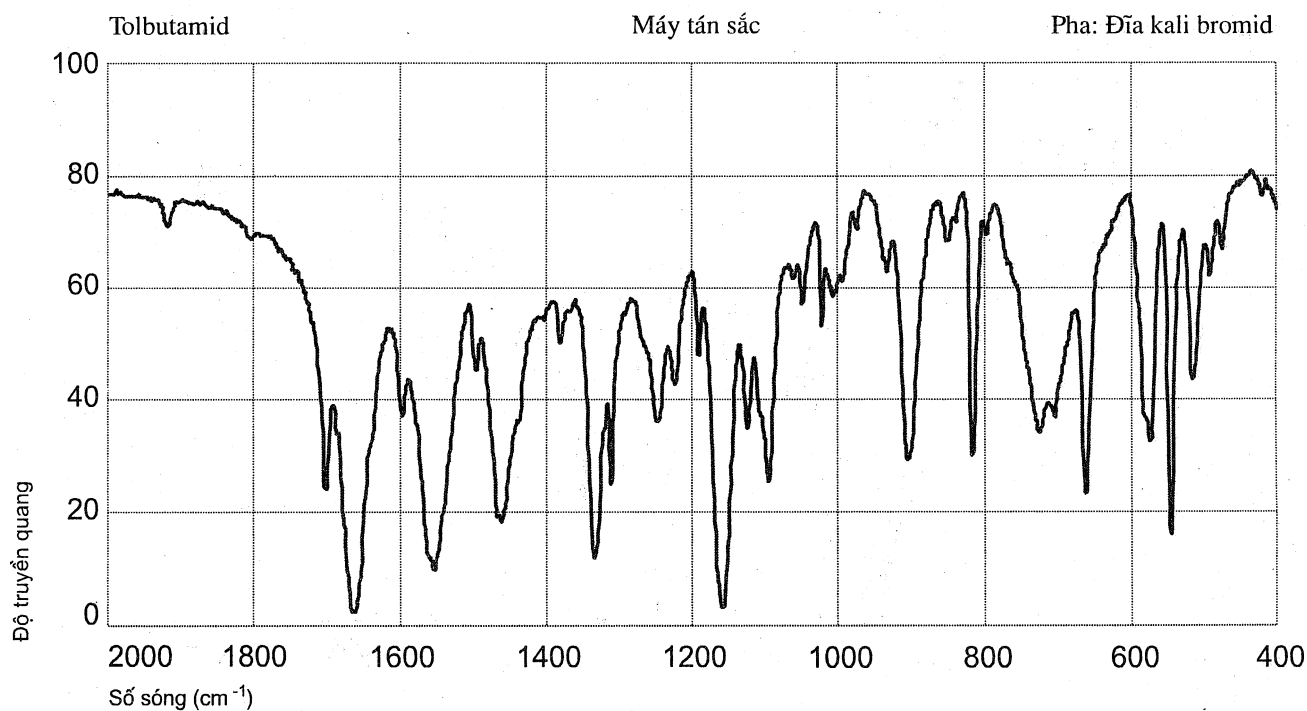
PĐC 145: Theophylin**PĐC 146: Thiamin hydroclorid**

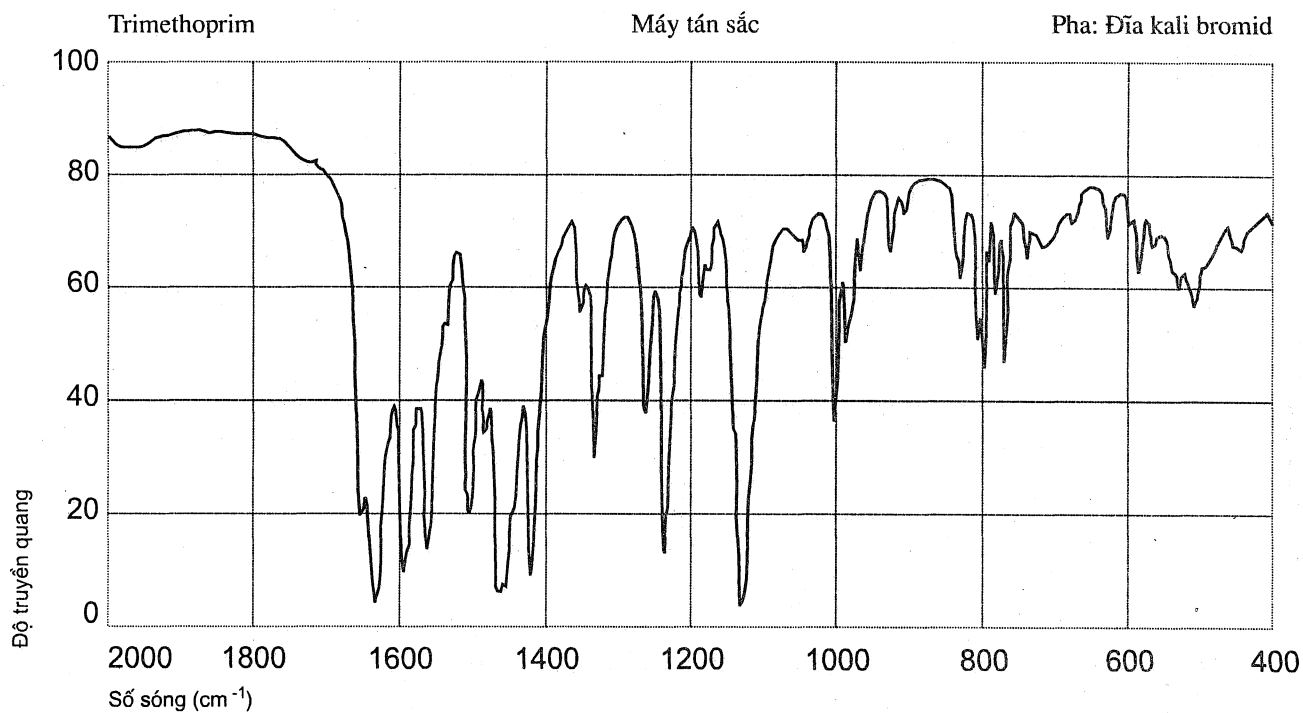
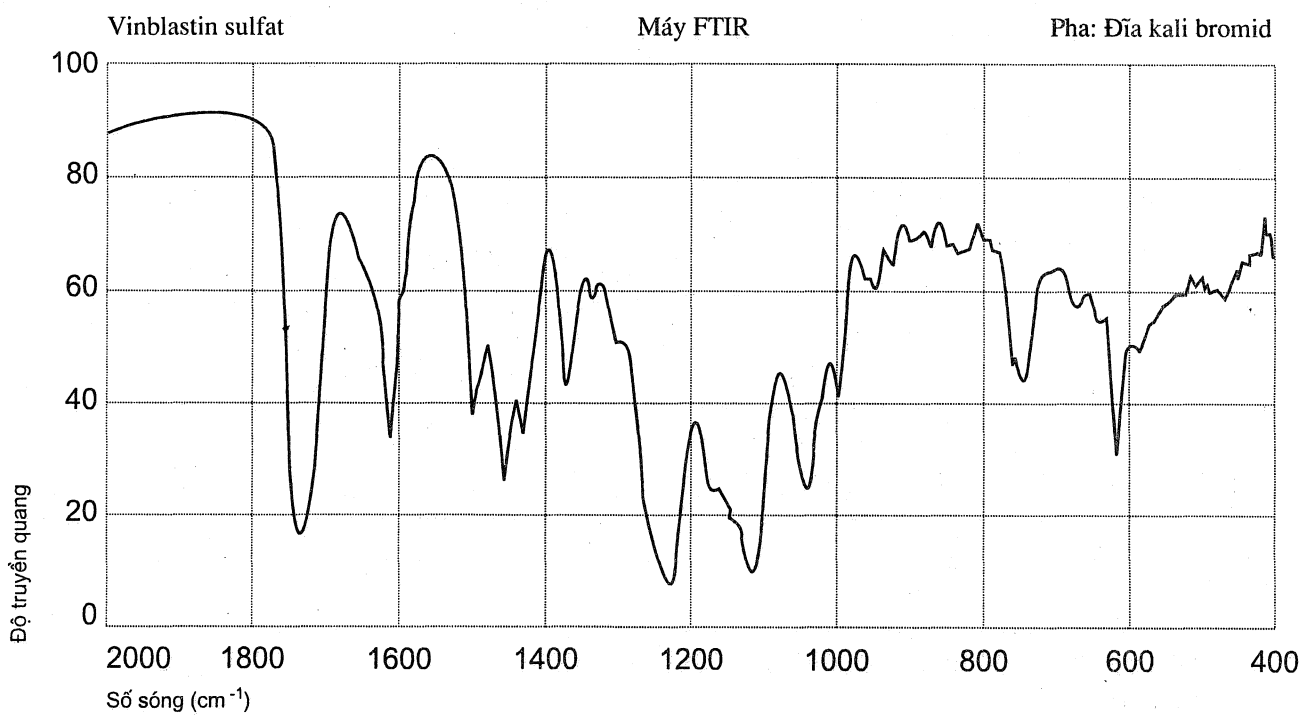
PĐC 147: Thiamin mononitrat

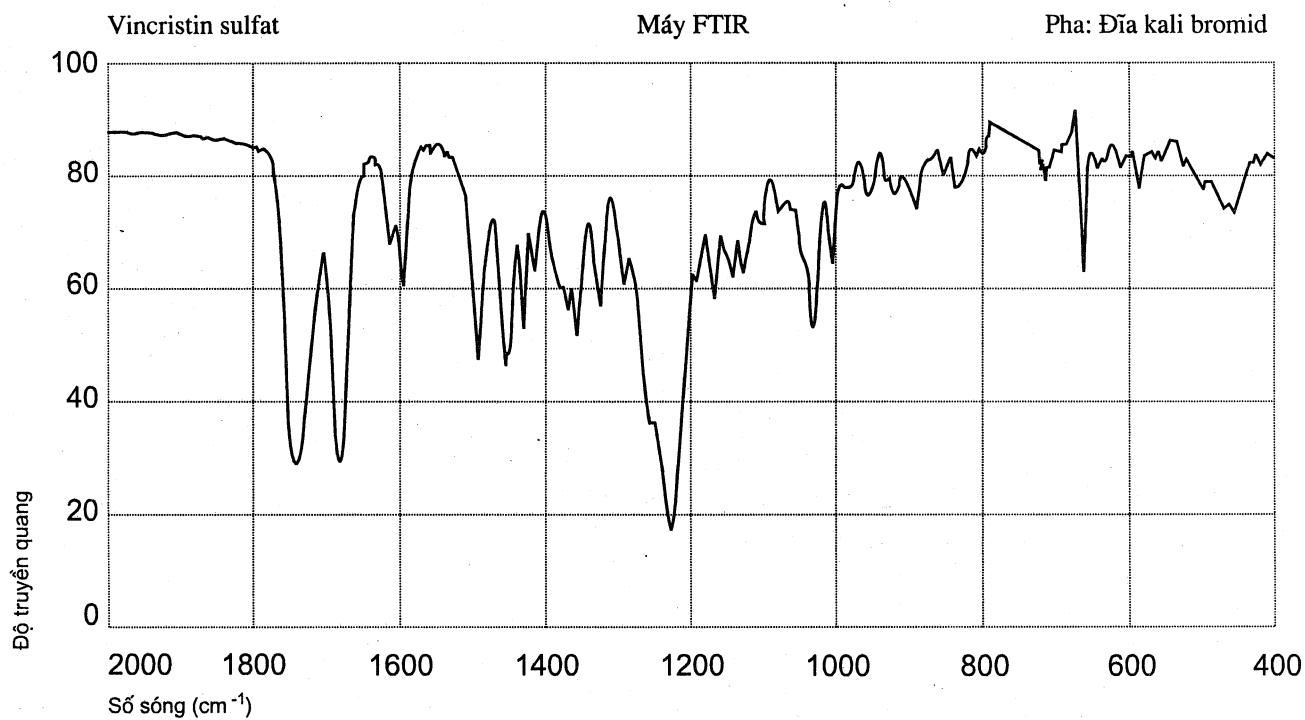
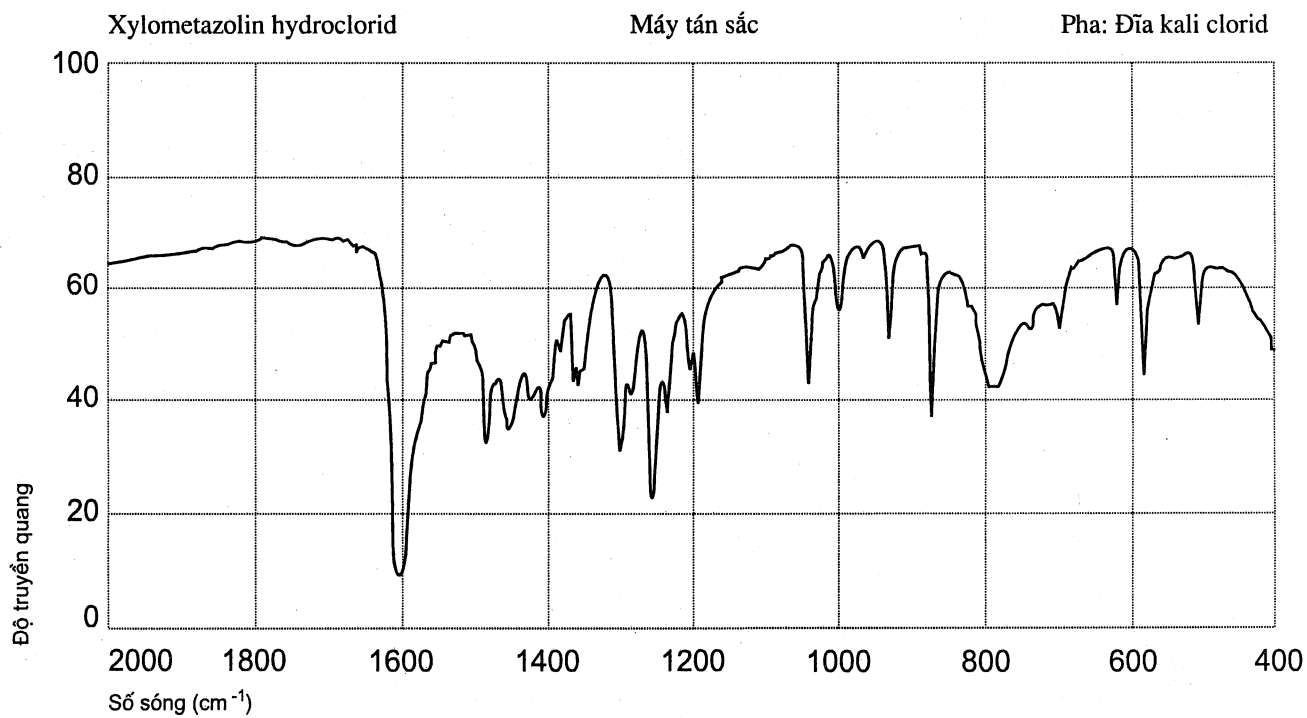


PĐC 148: Timolol maleat



PĐC 149: Tinidazol**PĐC 150: Tolbutamid**

PĐC 151: Trimethoprim**PĐC 152: Vinblastin sulfat**

PĐC 153: Vincristin sulfat**PĐC 154: Xylometazolin hydroclorid**

CÁC PHỤ LỤC

PHỤ LỤC 1

1.1 Cao thuốc	PL-9
1.2 Cồn thuốc	PL-10
1.3 Dung dịch thuốc	PL-11
1.4 Sirô thuốc	PL-11
1.5 Hồn dịch thuốc	PL-12
1.6 Nhũ tương thuốc	PL-12
1.7 Thuốc bột	PL-13
1.8 Thuốc cốm	PL-14
1.9 Thuốc dán thấm qua da và thuốc dán tác dụng tại chỗ	PL-15
1.10 Thuốc đặt	PL-17
1.11 Thuốc hoàn	PL-17
1.12 Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc	PL-18
1.13 Thuốc nang	PL-20
1.14 Thuốc nhỏ mắt	PL-21
1.15 Thuốc nhỏ mũi và thuốc xịt mũi dạng lỏng	PL-22
1.16 Thuốc nhỏ tai và thuốc xịt vào tai	PL-23
1.17 Thuốc hít	PL-23
1.18 Thuốc khí dung	PL-24
1.19 Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền	PL-27
1.20 Thuốc viên nén	PL-29
1.21 Thuốc bột y tế	PL-31
1.22 Rượu thuốc	PL-32
1.23 Thuốc thang	PL-33
1.24 Chè thuốc	PL-34

PHỤ LỤC 2

2.1 Các thuốc thử chung	PL-35
2.1.1 Hoá chất và thuốc thử	PL-35
2.1.2 Các chất chỉ thị	PL-80
2.2 Các dung dịch chuẩn độ	PL-86
2.3 Các dung dịch đệm	PL-92
2.4 Các dung dịch mẫu	PL-100
2.5 Các chất đối chiếu	PL-105

PHỤ LỤC 3

3.1 Cân và xác định khối lượng	PL-106
3.2 Nhiệt kế	PL-108
3.3 Dụng cụ đo thể tích	PL-109
3.4 Phễu lọc thủy tinh xóp	PL-110
3.5 Cỡ bột và rây	PL-110
3.6 Rửa dụng cụ thủy tinh	PL-111

PHỤ LỤC 4

4.1 Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến	PL-112
4.2 Phương pháp quang phổ hồng ngoại	PL-114
4.3 Phương pháp quang phổ huỳnh quang	PL-116
4.4 Phương pháp quang phổ nguyên tử phát xạ và hấp thụ	PL-116

PHỤ LỤC 5

Các kỹ thuật tách sắc ký	PL-119
5.1 Phương pháp sắc ký giấy	PL-124
5.2 Phương pháp sắc ký khí	PL-125
5.3 Phương pháp sắc ký lỏng	PL-127

5.4 Phương pháp sắc ký lớp mỏng	PL-129
5.5 Phương pháp sắc ký rây phân tử	PL-131
5.6 Phương pháp điện di	PL-134
5.7 Phương pháp điện di mao quản	PL-138

PHỤ LỤC 6

6.1 Xác định chỉ số khúc xạ	PL-144
6.2 Xác định chỉ số pH	PL-144
6.3 Xác định độ nhớt của chất lỏng	PL-145
6.4 Xác định góc quay cực và góc quay cực riêng	PL-147
6.5 Xác định khối lượng riêng và tỷ trọng	PL-148
6.6 Xác định nhiệt độ đông đặc	PL-149
6.7 Xác định nhiệt độ nóng chảy, khoảng nóng chảy và điểm nhỏ giọt	PL-149
6.8 Xác định nhiệt độ sôi và khoảng chưng cất	PL-152
6.9 Xác định độ thẩm thấu	PL-153
6.10 Xác định điện dẫn xuất	PL-154
6.11 Xác định khối lượng riêng của chất rắn	PL-155

PHỤ LỤC 7

7.1 Xác định chỉ số acetyl	PL-157
7.2 Xác định chỉ số acid	PL-157
7.3 Xác định chỉ số ester	PL-157
7.4 Xác định chỉ số hydroxyl	PL-157
7.5 Xác định chỉ số iod	PL-158
7.6 Xác định chỉ số peroxyd	PL-159
7.7 Xác định chỉ số xà phòng hoá	PL-160
7.8 Xác định chất không bị xà phòng hoá	PL-160
7.9 Xác định lưu huỳnh dioxyd	PL-161
7.10 Xác định các chất oxy hóa	PL-162
7.11 Xác định carbon hữu cơ toàn phần trong nước dùng cho ngành dược	PL-162

PHỤ LỤC 8

8.1 Các phản ứng định tính	PL-164
8.2 Định tính các penicilin	PL-169
8.3 Phản ứng màu của các penicilin và các cephalosporin	PL-171

PHỤ LỤC 9

9.1 Ống nghiệm dùng trong các phép thử so sánh	PL-172
9.2 Xác định độ trong của dung dịch	PL-172
9.3 Xác định màu sắc của dung dịch	PL-172
9.4 Xác định giới hạn các tạp chất	PL-174
9.4.1 Amoni	PL-174
9.4.2 Arsen	PL-174
9.4.3 Calci	PL-175
9.4.4 Chi trong đường	PL-175
9.4.5 Clorid	PL-175
9.4.6 Fluorid	PL-175
9.4.7 Kali	PL-176
9.4.8 Kim loại nặng	PL-176
9.4.9 Nhôm	PL-179
9.4.10 Nickel trong polyol ..	PL-179
9.4.11 Kim loại nặng trong dược liệu và trong dầu béo	PL-179
9.4.12 Phosphat	PL-180
9.4.13 Sắt	PL-180
9.4.14 Sulfat	PL-181

9.4.15 Magnesi	PL-181
9.4.16 Magnesi và kim loại kiềm thổ	PL-181
9.5 Xác định giới hạn carbon monoxyd trong khí y tế	PL-181
9.6 Xác định mất khối lượng do làm khô	PL-182
9.7 Xác định tro không tan trong acid	PL-182
9.8 Xác định tro toàn phần	PL-183
9.9 Xác định tro sulfat	PL-183
9.10 Xác định tro tan trong nước	PL-183

PHỤ LỤC 10

10.1 Phương pháp chuẩn độ đo ampe	PL-184
10.2 Phương pháp chuẩn độ đo điện thế	PL-184
10.3 Định lượng nước bằng thuốc thử Karl Fischer	PL-185
10.4 Phương pháp chuẩn độ bằng nitrit	PL-186
10.5 Phương pháp chuẩn độ complexon	PL-187
10.6 Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan	PL-187
10.7 Định lượng các kháng sinh họ penicilin bằng phương pháp đo iod	PL-188
10.8 Định lượng các steroid bằng tetrazolium	PL-189
10.9 Định lượng nitrogen trong hợp chất hữu cơ	PL-189
10.10 Định lượng vitamin A	PL-190
10.11 Phương pháp phân tích acid amin	PL-193
10.12 Xác định hàm lượng ethanol	PL-202
10.13 Xác định hàm lượng methanol và propan-2-ol	PL-204
10.14 Xác định dung môi tồn dư	PL-205
10.14.1 Qui định đối với tạp chất là dung môi tồn dư	PL-210
10.15 Xác định ethylen oxid và dioxan tồn dư	PL-216
10.16 Định lượng N,N-dimethylanilin	PL-217
10.17 Định lượng acid 2-ethylhexanoic	PL-218
10.18 Xác định acid acetic trong peptid tổng hợp	PL-218
10.19 Đốt trong oxygen	PL-219

PHỤ LỤC 11

11.1 Giới hạn cho phép về thể tích, nồng độ, hàm lượng thuốc của các dạng bào chế	PL-220
11.2 Phép thử độ đồng đều hàm lượng	PL-220
11.3 Phép thử độ đồng đều khối lượng	PL-221
11.4 Phép thử độ hòa tan của viên nén và nang	PL-222
11.5 Phép thử độ rã của thuốc đạn và thuốc trứng	PL-225
11.6 Phép thử độ rã của viên nén và nang	PL-226
11.7 Phép thử độ rã của viên bao tan trong ruột	PL-227
11.8 Xác định giới hạn tiêu phân	PL-228

PHỤ LỤC 12

12.1 Lấy mẫu dược liệu	PL-231
12.2 Những qui định chung về kiểm tra chất lượng dược liệu	PL-231
12.3 Phép thử xác định chiết kiệt alcaloid	PL-232
12.4 Định lượng aldehyd trong tinh dầu	PL-233
12.5 Định lượng cineol trong tinh dầu	PL-233
12.6 Định lượng taninoid trong dược liệu	PL-233
12.7 Định lượng tinh dầu trong dược liệu	PL-234
12.8 Các phép thử của tinh dầu	PL-235
12.9 Dầu béo	PL-236
12.10 Xác định các chất chiết được trong dược liệu	PL-239
12.11 Xác định tạp chất lẫn trong dược liệu	PL-239
12.12 Xác định tỷ lệ vụn nát của dược liệu	PL-240
12.13 Xác định hàm lượng nước bằng phương pháp cất với dung môi	PL-240

12.15	Cẩn khô của các chất chiết được trong dược liệu	PL-240
12.16	Mất khối lượng do làm khô của các chất chiết được trong dược liệu	PL-241
12.17	Dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật	PL-241
12.18	Định tính dược liệu và các chế phẩm bằng kính hiển vi	PL-244
12.19	Xác định chỉ số trương nở	PL-246
12.20	Phương pháp chế biến đông dược	PL-246

PHỤ LỤC 13

13.1	Phép thử histamin	PL-250
13.2	Phép thử nội độc tố vi khuẩn	PL-250
13.3	Phép thử các chất hạ áp	PL-255
13.4	Phép thử chất gây sốt	PL-256
13.5	Thử độc tính bất thường	PL-257
13.6	Thử giới hạn nhiễm khuẩn	PL-258
13.7	Thử vô khuẩn	PL-266
13.8	Xác định hiệu quả kháng khuẩn của chất bảo quản	PL-269
13.9	Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật	PL-271
13.10	Phân tích thống kê kết quả định lượng sinh học	PL-283

PHỤ LỤC 14

Hướng dẫn đánh giá sinh khả dụng và tương đương sinh học in vivo các chế phẩm thuốc	PL-311
---	--------

PHỤ LỤC 15

15.1	Xác định độ sống của vắc xin BCG	PL-316
15.2	Xác định độ chân không của vắc xin BCG	PL-317
15.3	Xác định độ phân tán của vắc xin BCG	PL-318
15.4	Xác định tính an toàn của vắc xin DTWP hấp phụ	PL-318
15.5	Xác định đậm độ vi khuẩn ho gà	PL-319
15.6	Xác định hàm lượng Tween 20 trong vắc xin và sinh phẩm	PL-319
15.7	Xác định tính vô khuẩn cho vắc xin và sinh phẩm	PL-320
15.8	Môi trường dùng để phát hiện vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí và nấm	PL-321
15.9	Phát hiện Mycobacteria gây bệnh (an toàn đặc hiệu vắc xin BCG)	PL-322
15.10	Thử nghiệm nhận dạng huyết thanh miễn dịch	PL-323
15.11	Xác định an toàn chung của vắc xin và sinh phẩm	PL-323
15.12	Xác định chất gây sốt trong vắc xin và sinh phẩm	PL-324
15.14	Phương pháp lấy mẫu và lưu mẫu	PL-325
15.15	Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố bạch hầu	PL-326
15.16	Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố uốn ván	PL-328
15.17	Xác định hiệu giá của huyết thanh kháng dại	PL-329
15.18	Xác định nitrogen toàn phần của vắc xin và sinh phẩm bằng thuốc thử Nessler	PL-330
15.19	Thử nghiệm nhận dạng thành phần Bạch hầu-uốn ván-ho gà trong vắc xin DTWP hấp phụ	PL-330
15.20	Xác định độc tố thần kinh tồn dư trong vắc xin bại liệt uống	PL-331
15.21	Xác định công hiệu của vắc xin bại liệt uống	PL-332
15.22	Xác định công hiệu của giải độc tố uốn ván hoặc thành phần uốn ván trong vắc xin DTWP hấp phụ	PL-333
15.23	Xác định công hiệu giải độc tố bạch hầu hoặc thành phần bạch hầu trong vắc xin phối hợp, hấp phụ	PL-334
15.24	Xác định công hiệu thành phần ho gà toàn tế bào trong vắc xin phối hợp, hấp phụ	PL-337
15.25	Xác định hàm lượng formaldehyd tồn dư trong vắc xin và sinh phẩm	PL-339
15.26	Xác định hàm lượng natri clorid với sự có mặt của protein	PL-340
15.27	Xác định hàm lượng nhôm (Al ⁺⁺⁺) trong vắc xin và sinh phẩm	PL-340
15.28	Xác định hàm lượng phenol trong vắc xin và sinh phẩm	PL-341
15.29	Xác định hàm lượng thimerosal trong vắc xin và sinh phẩm	PL-342
15.30	Xác định hiệu lực vắc xin dại theo phương pháp Habel	PL-343
15.31	Xác định hiệu lực vắc xin dại theo phương pháp NIH	PL-344

15.32	Xác định nitrogen trong vắc xin và sinh phẩm	PL-344
15.33	Xác định pH của các vắc xin và sinh phẩm	PL-345
15.34	Xác định hàm lượng protein toàn phần trong vắc xin và sinh phẩm	PL-346
15.35	Xác định độ ẩm tồn dư trong vắc xin đông khô	PL-347
15.36	Phát hiện mycoplasma bằng phương pháp nuôi cấy	PL-348
15.37	Xác định hàm lượng Vi polysacarid của vắc xin thương hàn Vi polysacarid	PL-348
15.38	Xác định hàm lượng polysacarid trong vắc xin và sinh phẩm	PL-349
15.39	Xác định độ tinh khiết kháng nguyên HbsAg	PL-350
15.40	Xác định hàm lượng lipid trong vắc xin và sinh phẩm	PL-350
15.41	Xác định hàm lượng ceri clorid trong vắc xin và sinh phẩm	PL-350

PHỤ LỤC 16

16.1	Các phương pháp tiệt khuẩn	PL-352
16.2	Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn	PL-354

PHỤ LỤC 17

	Đồ đựng dùng cho chế phẩm dược	PL-356
17.1	Đồ đựng bằng thủy tinh dùng cho chế phẩm dược	PL-356
17.2	Đồ đựng bằng kim loại cho thuốc mỡ tra mắt	PL-358
17.3	Đồ đựng và nút bằng chất dẻo	PL-359
17.3.1	Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho những chế phẩm không phải thuốc tiêm	PL-360
17.3.2	Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm thuốc tiêm	PL-360
17.3.3	Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm nhỏ mắt	PL-365
17.4	Dụng cụ tiêm truyền đã tiệt khuẩn (Bộ dây truyền dịch)	PL-366
17.5	Nút cao su dùng cho chai đựng thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền	PL-368
17.6	Bơm tiêm vô khuẩn bằng chất dẻo sử dụng một lần	PL-370
17.7	Dầu silicon dùng bôi trơn	PL-371

PHỤ LỤC 18

	Bảng nguyên tử lượng các nguyên tố	PL-373
--	------------------------------------	--------

PHỤ LỤC 1

1.1 CAO THUỐC

Extracta

Định nghĩa

Cao thuốc là chế phẩm được chế bằng cách cô hoặc sấy đến thể chất quy định các dịch chiết thu được từ dược liệu thực vật hay động vật với các dung môi thích hợp.

Các dược liệu trước khi chiết xuất được xử lý sơ bộ (rửa sạch, phơi khô hoặc sấy khô và chia nhỏ đến kích thước thích hợp). Đối với một số dược liệu đặc biệt có chứa men làm phân hủy hoạt chất, cần phải diệt men trước khi đưa vào sử dụng bằng cách dùng hơi cồn sôi, hơi nước sôi hoặc bằng phương pháp thích hợp khác.

Cao thuốc được chia làm 3 loại:

Cao lỏng: Là chất lỏng hơi sánh, có mùi vị đặc trưng của dược liệu sử dụng trong đó cồn và nước đóng vai trò dung môi chính (hay chất bảo quản hay cả hai). Nếu không có chỉ dẫn khác, quy ước 1 ml cao lỏng tương ứng với 1 g dược liệu dùng để điều chế cao thuốc.

Cao đặc: Là khối đặc quánh. Hàm lượng dung môi sử dụng còn lại trong cao không quá 20 %.

Cao khô: Là khối hoặc bột khô, đồng nhất nhưng rất dễ hút ẩm. Cao khô không được có độ ẩm lớn hơn 5 %.

Phương pháp điều chế

Quá trình điều chế cao thuốc thường có 2 giai đoạn:

Giai đoạn I

Chiết xuất dược liệu bằng các dung môi thích hợp. Tùy theo bản chất của dược liệu, dung môi, tiêu chuẩn chất lượng của thành phẩm cũng như điều kiện, quy mô sản xuất và trang thiết bị, có thể sử dụng các phương pháp chiết xuất: Ngâm, hầm, hãm, sắc, ngâm nhỏ giọt, chiết xuất ngược dòng, chiết xuất bằng thiết bị siêu âm, chiết xuất bằng phương pháp sử dụng điện trường và các phương pháp khác. Phương pháp ngâm nhỏ giọt thường được sử dụng. Khi đó, dược liệu thô đã được chia nhỏ đến kích thước phù hợp, được làm ẩm với một lượng dung môi vừa đủ rồi đặt kín để yên trong khoảng 2 giờ đến 4 giờ. Sau đó, chuyển khối dược liệu vào bình ngâm kiệt, thêm lượng dung môi vừa đủ đến khi ngập hoàn toàn khối dược liệu. Thời gian ngâm lạnh và tốc độ chảy trong quá trình chiết có thể thay đổi theo khối lượng và bản chất của dược liệu thô đem chiết.

Giai đoạn II

Cao lỏng: Sau khi thu được dịch chiết, tiến hành lọc và cô dịch chiết bằng các phương pháp khác nhau để

thu được cao lỏng có tỷ lệ theo như quy ước (1 ml cao lỏng tương ứng với 1 g dược liệu). Trong trường hợp điều chế cao lỏng bằng phương pháp ngâm nhỏ giọt, tốc độ chảy của dịch chiết có thể chậm, vừa hay nhanh. Nếu chiết xuất 1000 g dược liệu thì :

Ở tốc độ chậm: Không quá 1 ml dịch chiết trong 1 phút.

Ở tốc độ vừa: 1 ml đến 3 ml dịch chiết trong 1 phút.

Ở tốc độ nhanh: 3 ml đến 5 ml dịch chiết trong 1 phút.

Để riêng phần dịch chiết đầu đậm đặc bằng 4/5 lượng dược liệu đem chiết. Sau đó cô các phần dịch chiết tiếp theo trên cách thủy hoặc cô dưới áp suất giảm ở nhiệt độ không quá 60 °C cho đến khi loại hết dung môi. Hòa tan cần thu được vào trong dịch chiết đầu đậm đặc và nếu cần, thêm dung môi vào để thu được cao lỏng đạt tỷ lệ quy định. Cao lỏng có khuynh hướng bị lắng cặn vì vậy để cao lỏng ở chỗ mát trong thời gian ít nhất 3 ngày, rồi lọc.

Cao đặc và cao khô: Dịch chiết được cô đặc đến khi dung môi dùng để chiết xuất còn lại không quá 20 % được cao đặc. Trong trường hợp điều chế cao khô, tiếp tục sấy khô để độ ẩm còn lại không quá 5 %. Để đạt đến thể chất quy định, quá trình cô đặc và sấy khô dịch chiết thường được tiến hành trong các thiết bị cô dưới áp suất giảm ở nhiệt độ không quá 60 °C. Nếu không có các thiết bị cô đặc và sấy dưới áp suất giảm thì được phép cô cách thủy (không được cô trực tiếp trên lửa) và sấy ở nhiệt độ không quá 80 °C.

Trường hợp muốn thu được cao thuốc có tỷ lệ tạp chất thấp, phải tiến hành loại tạp chất bằng các phương pháp thích hợp tùy thuộc vào bản chất của dược liệu, dung môi và phương pháp chiết xuất.

Có thể cho thêm chất bảo quản hoặc các chất trợ để làm chất mang hay để cải thiện các tính chất vật lý. Đối với cao khô có thể sử dụng các bột trợ thích hợp để điều chỉnh nồng độ hoạt chất đến tỷ lệ quy định.

Yêu cầu chất lượng

Đạt các yêu cầu theo quy định trong chuyên luận riêng và đạt các yêu cầu chung sau đây:

Độ tan: Cao lỏng phải tan hoàn toàn trong dung môi đã sử dụng để điều chế cao.

Độ trong, mùi vị, độ đồng nhất và màu sắc: Cao thuốc phải đúng màu sắc đã mô tả trong chuyên luận riêng, có mùi và vị đặc trưng của dược liệu sử dụng. Ngoài ra, cao lỏng còn phải đồng nhất, không có váng mốc, không có cặn bã dược liệu và vật lạ.

Cách tiến hành: Lấy riêng phần phía trên của chai thuốc chỉ để lại khoảng 10 ml đến 15 ml. Chuyển phần còn lại trong chai vào một bát sứ men trắng, nghiêng bát cho chúng chảy trên thành bát tạo thành một lớp để quan sát. Quan sát dưới ánh sáng tự nhiên, thuốc phải đạt các yêu cầu quy định. Nếu không đạt, phải thử lại lần hai với chai thuốc khác, nếu không đạt, coi như lô thuốc không đạt chỉ tiêu này.

Mất khối lượng do làm khô (nếu không có chỉ dẫn khác):

Cao đặc không quá 20 %.

Cao khô không quá 5 %.

Hàm lượng cồn: Đạt từ 90 % đến 110 % lượng ethanol ghi trên nhãn (áp dụng cho cao lỏng và cao đặc).

Kim loại nặng: Đáp ứng yêu cầu qui định trong chuyên luận riêng.

Dung môi tồn dư: Nếu điều chế với dung môi không phải là cồn, nước hay hỗn hợp cồn - nước, dư lượng dung môi sử dụng phải đáp ứng yêu cầu qui định trong Phụ lục 10.14 Xác định dung môi tồn dư.

Dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật: Đáp ứng yêu cầu quy định trong Phụ lục 12.17 Dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật.

Giới hạn nhiễm khuẩn: Đáp ứng yêu cầu qui định trong Phụ lục 13.6 Thử giới hạn nhiễm khuẩn.

Bảo quản

Cao thuốc được đựng trong bao bì kín, để nơi khô, mát, tránh ánh sáng, nhiệt độ ít thay đổi.

Nhãn: Ghi tên bộ phận dùng của cây thuốc, tên dung môi (nếu không phải là dung môi cồn, nước hay hỗn hợp cồn - nước), hàm lượng (%) của hoạt chất hoặc của hợp chất nhận dạng được quy định theo từng chuyên luận riêng, tên và nồng độ của chất bảo quản thêm vào. Khi hoạt chất chưa biết, tỷ lệ giữa dược liệu và sản phẩm cuối cùng phải được nêu rõ. Đối với cao đặc và cao khô, loại và số lượng tá dược thêm vào cũng được nêu ra và tỷ lệ phần trăm của cao tự nhiên cũng phải được ghi rõ.

1.2 CỒN THUỐC

Tincturae

Định nghĩa

Cồn thuốc là những chế phẩm lỏng, được điều chế bằng cách chiết dược liệu thực vật, động vật hoặc hòa tan cao thuốc, được chất theo tỷ lệ quy định với ethanol ở các nồng độ khác nhau.

Cồn thuốc được điều chế từ một nguyên liệu gọi là cồn thuốc đơn.

Cồn thuốc được điều chế từ nhiều nguyên liệu khác nhau gọi là cồn thuốc kép.

Cách biểu thị hoạt tính:

Các cồn thuốc có nguồn gốc từ thực vật có chứa các thành phần có hoạt tính mạnh, biểu thị hoạt tính theo 10 g dược liệu trong mỗi 100 ml cồn thuốc.

Phần lớn những cồn thuốc từ dược liệu khác biểu thị theo 20 g dược liệu trong mỗi 100 ml cồn thuốc.

Các cồn thuốc khác nhau không nhất thiết phải pha loãng để đạt cùng một tỷ lệ giữa dược liệu ban đầu và cồn thuốc. Tỷ lệ này sẽ tùy thuộc vào các yêu cầu

được mô tả trong các thử nghiệm xác định hàm lượng của hoạt chất hay của nhóm hoạt chất trong các chuyên luận riêng. Trong khi điều chế, cồn thuốc được định lượng theo những thử nghiệm xác định hàm lượng này. Sử dụng các giá trị thu được từ kết quả định lượng, điều chỉnh nồng độ cuối cùng của cồn thuốc bằng cách cho thêm dung môi hoặc làm bay hơi một phần dung môi.

Phương pháp điều chế

Cồn thuốc có thể được điều chế theo ba phương pháp: Ngâm, ngâm nhỏ giọt và hòa tan.

Phương pháp ngâm

Cho dược liệu đã chia nhỏ vào một dụng cụ thích hợp và thêm khoảng 3/4 lượng ethanol sử dụng. Đậy kín, để ở nhiệt độ thường, ngâm từ 3 ngày đến 10 ngày, thỉnh thoảng khuấy trộn. Sau đó gạn lọc thu dịch chiết. Rửa bã và ép bã bằng lượng ethanol còn lại. Gộp dịch chiết, dịch ép và bổ sung ethanol để thu được lượng dịch chiết quy định, để yên từ 1 ngày đến 3 ngày, gạn lọc lấy dịch trong.

Phương pháp ngâm nhỏ giọt

Dùng bình ngâm nhỏ giọt có thể tích phù hợp với khối lượng dược liệu đem chiết. Cho dược liệu đã chia nhỏ vào một dụng cụ thích hợp, trộn với ethanol vừa đủ ẩm. Đậy nắp kín, để yên 2 giờ đến 4 giờ ở nhiệt độ phòng. Cho dược liệu đã làm ẩm vào bình ngâm nhỏ giọt đến khoảng 3/4 thể tích của bình, đặt trên mặt dược liệu những vật liệu thích hợp để tránh xáo trộn khi đổ dung môi vào. Mở khóa bình, đổ từ từ ethanol lên khối dược liệu cho đến khi có vài giọt dịch chiết chảy ra, đóng khóa bình lại và tiếp tục thêm ethanol cho đến khi ngập hoàn toàn khối dược liệu. Để ngâm trong khoảng 24 giờ hoặc tùy theo mỗi chuyên luận, sau đó rút dịch chiết.

Nếu trong chuyên luận không yêu cầu phải định lượng hoạt chất hoặc nhóm hoạt chất, tiến hành rút dịch chiết với tốc độ nhỏ giọt phù hợp (xem tốc độ nhỏ giọt ở mục Cao lỏng, chuyên luận Cao thuốc - Phụ lục 1.1). Thêm ethanol vào và tiếp tục rút dịch chiết đến khi thu được lượng dịch chiết quy định. Trộn đều và để yên trong 2 ngày đến 3 ngày, gạn lọc lấy dịch trong.

Nếu có yêu cầu phải định lượng hoạt chất hoặc nhóm hoạt chất, gộp các dịch chiết lại, trộn, rồi định lượng theo hướng dẫn trong chuyên luận. Pha loãng phần dịch chiết còn lại với một lượng dung môi theo tính toán từ thử nghiệm xác định hàm lượng để thu được cồn thuốc theo yêu cầu.

Phương pháp hòa tan

Hòa tan cao thuốc, dược chất hoặc tinh dầu vào ethanol có nồng độ qui định. Để lắng sau đó lọc để loại tủa.

Yêu cầu chất lượng

Trừ trường hợp đặc biệt được nêu trong chuyên luận riêng, yêu cầu chung đối với cồn thuốc như sau:

Tỷ trọng, tạp chất, định tính, hàm lượng hoạt chất, hàm lượng ethanol: Đáp ứng yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng.

Cẩn sau khi bay hơi: Giới hạn quy định theo chuyên luận riêng.

Cách tiến hành: Lấy chính xác 5,0 ml hoặc 5,000 g cồn thuốc cho vào một cốc có đường kính 5 cm đến 7 cm và cao 2 cm đến 3 cm đã cân bì trước, làm bay hơi đến khô trên cách thủy và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 3 giờ, để nguội trong bình hút ẩm có chứa diphosphor pentoxyd và cân. Tính % khối lượng hay số g cần trong 1 lít chế phẩm.

Bảo quản

Cồn thuốc được đựng trong bao bì kín, để nơi thoáng mát và tránh ánh sáng.

Nhãn phải nêu tên của bộ phận dùng của cây, tên dung môi hoặc hỗn hợp dung môi được sử dụng, nồng độ các thành phần quan trọng và tỷ lệ giữa dược liệu thô ban đầu so với cồn thuốc.

1.3 DUNG DỊCH THUỐC*Solutiones***Định nghĩa**

Dung dịch thuốc là những chế phẩm lỏng trong suốt chứa một hoặc nhiều dược chất hòa tan, tức phân tán dưới dạng phân tử, trong một dung môi thích hợp (nước, ethanol, glycerin, dầu...) hay hỗn hợp nhiều dung môi trộn lẫn với nhau. Do các phân tử trong dung dịch phân tán đồng nhất, nên các dung dịch thuốc đảm bảo sự phân liều đồng nhất khi sử dụng và độ chính xác cao khi pha loãng hoặc khi trộn các dung dịch với nhau.

Các dược chất trong dung dịch thường không ổn định về mặt hóa học so với dạng rắn.

Các dung dịch thuốc thường cần bao bì lớn và có khối lượng lớn hơn so với dạng thuốc rắn.

Phương pháp điều chế

Dung dịch thuốc thường được điều chế bằng cách hòa tan dược chất vào trong dung môi. Có thể cho thêm các tá dược với nồng độ thích hợp để ổn định dược chất (chống oxy hóa, chống thủy phân...), làm tăng độ tan hay để bảo quản thuốc.

Các dung dịch thuốc được phân loại theo đường sử dụng như Dung dịch uống và Dung dịch dùng tại chỗ hay được phân loại theo hệ thống dung môi và chất tan như Dung dịch nước, Dung dịch cồn. Các dung dịch dùng để tiêm hoặc nhỏ mắt được quy định riêng trong chuyên luận Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền (Phụ lục 1.19), Thuốc nhỏ mắt (Phụ lục 1.14).

Yêu cầu chất lượng

Theo yêu cầu kỹ thuật chung của từng loại thuốc và theo chuyên luận riêng.

Bảo quản

Các dung dịch, đặc biệt là các dung dịch chứa dung môi dễ bay hơi, phải bảo quản trong bao bì kín, để nơi mát. Cần xem xét để sử dụng các bao bì tránh ánh sáng khi sự biến đổi hóa học do ánh sáng có thể ảnh hưởng đến độ ổn định của thuốc.

1.4 SIRÔ THUỐC*Sirupi***Định nghĩa**

Sirô thuốc là dung dịch uống chứa nồng độ cao đường trắng (sucrose) hay các loại đường khác trong nước tinh khiết, có chứa các dược chất hoặc các dịch chiết từ dược liệu.

Sirô đơn là dung dịch đường trắng gần bão hòa trong nước tinh khiết.

Sirô cũng được dùng để chỉ các chế phẩm lỏng sệt hay hỗn dịch của thuốc trong đó có chứa đường trắng, các loại đường khác hay những tác nhân gây ngọt. Sirô cũng bao gồm những chế phẩm được hòa tan hay tạo thành hỗn dịch ngay trước khi sử dụng tùy theo tính chất của dược chất.

Phương pháp điều chế*Chuẩn bị:*

Dung dịch thuốc: Dược chất được hòa tan trong nước tinh khiết. Các dược liệu được chiết xuất, lọc, làm đậm đặc theo những phương pháp thích hợp.

Sirô đơn: Hòa tan đường trắng vào nước tinh khiết bằng phương pháp hòa tan nóng hay hòa tan nguội. Lọc.

Điều chế sirô thuốc:

Tùy theo tính chất của dược chất, sirô được điều chế bằng cách hòa tan, nhũ hóa hay trộn đều dược chất hay dung dịch thuốc vào trong dung dịch của đường trắng, của các loại đường khác hay của tác nhân gây ngọt, hoặc trong sirô đơn. Lọc đối với sirô dạng dung dịch.

Sirô có thể được điều chế từ dạng bột hay cốm khô được hòa tan hay tạo thành hỗn dịch ngay trước khi sử dụng tùy theo tính chất của dược chất.

Có thể cho thêm chất bảo quản, chất làm thơm, chất ổn định chế phẩm... với nồng độ thích hợp, như ethanol, glycerin...

Điều chế sirô trong môi trường sản xuất có cấp độ sạch theo quy định.

Yêu cầu chất lượng

Hàm lượng: Sirô đơn điều chế với đường trắng có nồng độ là 64 % (kl/kl).

Tính chất: Sirô phải trong (nếu dạng dung dịch), không có mùi lạ, bọt khí hoặc có sự biến chất khác trong quá trình bảo quản.

Nồng độ hoạt chất, pH, tỷ trọng, độ nhiễm khuẩn và các chỉ tiêu khác: Đạt theo quy định trong các chuyên luận riêng.

Bột hoặc cốm để pha sirô: Phải đáp ứng yêu cầu chung của dạng Thuốc bột (Phụ lục 1.7) hoặc Thuốc cốm (Phụ lục 1.8).

Bảo quản

Đựng trong chai lọ khô sạch, đậy nút kín, để nơi mát.

1.5 HỖN DỊCH THUỐC

Suspensiones

Định nghĩa

Hỗn dịch là dạng thuốc lỏng để uống, tiêm hoặc dùng ngoài, chứa dược chất rắn không hòa tan được phân tán đều dưới dạng hạt rất nhỏ (đường kính từ 0,1µm trở lên) trong chất dẫn là nước hoặc dầu.

Thuật ngữ “Sữa” đôi khi được sử dụng để chỉ các hỗn dịch với chất dẫn là nước dùng để uống (ví dụ Sữa magnesi). Thuật ngữ “Magma” thường được dùng để mô tả các hỗn dịch của các chất rắn vô cơ như bentonit phân tán trong nước, trong đó có khuynh hướng hydrat hóa mạnh và có sự kết hợp các tiểu phân chất rắn để tạo ra thể chất sệt và có tính lưu biến kiểu thixotrop.

Thuật ngữ “Thuốc xức” được dùng để phân loại các hỗn dịch và nhũ tương bôi lên da cho tác dụng tại chỗ. Tùy theo hình thức cảm quan, hỗn dịch được chia làm hai loại:

Dạng hỗn dịch hoàn chỉnh để có thể sử dụng ngay: Là chất lỏng đục hay thể lỏng có một lớp cặn ở đáy chai, khi lắc nhẹ cặn này phải phân tán đều trở lại trong chất dẫn.

Dạng bột hay cốm: Trước khi sử dụng chuyển thành hỗn dịch hoàn chỉnh bằng cách lắc với một lượng chất dẫn thích hợp.

Hỗn dịch không được dùng để tiêm tĩnh mạch hay động mạch.

Phương pháp điều chế

Tùy theo dược chất rắn, có thể điều chế hỗn dịch bằng cách:

Phân tán dược chất rắn đã được nghiền mịn cùng với các tác nhân tạo hỗn dịch vào trong chất dẫn.

Tạo ra dược chất rắn kết tủa trong chất dẫn ngay khi pha chế bằng cách làm thay đổi dung môi hay bằng một phản ứng trao đổi ion.

Do bản chất là hệ phân tán dị thể, các tiểu phân rắn trong hỗn dịch khi để yên có khuynh hướng lắng xuống đáy bình chứa. Sự lắng có thể dẫn đến sự đóng

bánh và làm cho chất lắng trở nên rắn chắc, như vậy sẽ gặp khó khăn khi lắc để phân tán chúng trở lại trạng thái phân tán đều. Để ngăn ngừa hiện tượng này, cần thêm vào hỗn dịch một số chất phụ như chất hoạt động bề mặt, chất tăng độ nhớt nhằm duy trì trạng thái phân tán của hỗn dịch. Đối với hỗn dịch uống, cần cho thêm các chất bảo quản và các chất điều vị thích hợp. Hỗn dịch dùng để tiêm hoặc để nhỏ mắt phải pha chế trong điều kiện vô khuẩn hoặc được tiệt khuẩn sau khi pha chế.

Yêu cầu chất lượng

Yêu cầu chung: Hỗn dịch khi để yên thì dược chất rắn phân tán có thể tách riêng nhưng phải trở lại trạng thái phân tán đồng nhất trong chất dẫn khi lắc nhẹ trong 1 phút đến 2 phút và giữ nguyên trạng thái đó trong vài phút.

Yêu cầu về pH, định tính, định lượng, sai số thể tích và các yêu cầu kỹ thuật khác : Đạt theo qui định trong chuyên luận riêng.

Hỗn dịch dùng để tiêm hoặc để nhỏ mắt : Phải đáp ứng yêu cầu về Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7) và yêu cầu về kích thước tiểu phân qui định theo chuyên luận riêng.

Bột hoặc cốm để pha hỗn dịch : Phải đáp ứng yêu cầu chung của dạng Thuốc bột (Phụ lục 1.7) hoặc Thuốc cốm (Phụ lục 1.8).

Bảo quản

Đóng hỗn dịch vào chai lọ kín có dung tích lớn hơn thể tích thuốc và trên nhãn có ghi dòng chữ: *Lắc trước khi dùng.*

1.6 NHŨ TƯƠNG THUỐC

Emulsiones

Định nghĩa

Nhũ tương thuốc là dạng thuốc lỏng hoặc mềm để uống, tiêm hoặc dùng ngoài, được điều chế bằng cách sử dụng các chất nhũ hóa để trộn đều hai chất lỏng không đồng tan được gọi theo quy ước là:

Dầu (bao gồm các dầu, mỡ, sáp, tinh dầu, chất nhựa và những dược chất không tan trong nước) và

Nước (bao gồm nước cất, nước thơm, nước sắc, nước hãm hoặc các dung dịch nước của các dược chất, v.v...).

Trong nhũ tương thuốc, một trong hai chất lỏng là pha phân tán hoặc pha nội, ở dạng tiểu phân có đường kính từ 0,1 µm trở lên, phân tán đều trong chất lỏng kia gọi là môi trường phân tán hoặc pha ngoại.

Khi dầu là pha phân tán và nước là môi trường phân tán thì nhũ tương là kiểu dầu trong nước, có ký hiệu là D/N;

Khi nước là pha phân tán và dầu là môi trường phân tán thì nhũ tương là kiểu nước trong dầu có ký hiệu là: N/D.

Chất nhũ hóa quyết định kiểu nhũ tương và giúp ổn định chúng do ngăn cản sự kết tụ các giọt nhỏ thành giọt lớn, dẫn đến sự tách lớp. Chất nhũ hóa hòa tan trong nước sẽ tạo ra kiểu nhũ tương D/N; chất nhũ hóa hòa tan trong dầu, mỡ, sáp sẽ tạo ra kiểu nhũ tương N/D. Các chất nhũ hóa là chất hoạt động bề mặt, khi có lực phân tán, sẽ tập trung lên bề mặt tiếp xúc giữa hai pha tạo ra hàng rào ngăn cản không cho các giọt kết tụ lại, mặt khác làm giảm sức căng liên bề mặt giữa hai pha, nhờ vậy giúp sự nhũ hóa được dễ dàng. Các chất cao phân tử thân nước thiên nhiên, bản tổng hợp hay tổng hợp có thể được sử dụng phối hợp với chất nhũ hóa hoạt động bề mặt trong các nhũ tương kiểu D/N do chúng tích tụ lên bề mặt tiếp xúc và cũng làm tăng độ nhớt của pha nước, như vậy làm giảm sự kết hợp của các giọt. Sự kết hợp này thường sẽ dẫn đến hiện tượng: Sự nổi kem do các giọt dầu lớn nổi lên (trong nhũ tương D/N) hoặc sự lắng xuống đáy của các giọt nước lớn (trong nhũ tương N/D).

Phương pháp điều chế

Tùy theo điều kiện trang thiết bị, nhũ tương có thể được điều chế bằng cách:

Điều chế nhũ tương đậm đặc với chất nhũ hóa, được chất lỏng và lượng vừa đủ pha ngoại, sau đó pha loãng nhũ tương đậm đặc với pha ngoại.

Hòa tan chất nhũ hóa vào pha ngoại, sau đó cho được chất lỏng vào từ từ vừa dùng lực gây phân tán mạnh để nhũ hóa.

Cần cho thêm các chất bảo quản thích hợp vào nhũ tương do pha nước là môi trường thuận lợi cho sự phát triển của vi khuẩn và nấm mốc. Hiệu lực của các chất bảo quản trong thành phẩm phải được kiểm tra.

Yêu cầu chất lượng

Tính chất: Khi quan sát bằng mắt thường, nhũ tương đặc phải mịn và đồng nhất giống như kem; còn nhũ tương lỏng phải đục trắng và đồng nhất giống như sữa.

Nhũ tương được coi như đã bị hỏng khi hai tướng lỏng đã tách riêng nhau và bằng cách khuấy lắc cũng không thể khôi phục lại trạng thái phân tán đồng nhất nữa.

Yêu cầu về pH, định tính, định lượng, sai số thể tích và các yêu cầu kỹ thuật khác: Phải đạt qui định theo chuyên luận riêng.

Nhũ tương dùng để tiêm: Phải đáp ứng yêu cầu về Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Bảo quản

Ở nơi mát, nhiệt độ ít thay đổi.

Đóng nhũ tương thuốc vào chai lọ có dung tích hơi lớn hơn thể tích thuốc một chút và trên nhãn có ghi dòng chữ: *Lắc trước khi dùng*.

1.7 THUỐC BỘT

Pulveres

Định nghĩa

Thuốc bột là dạng thuốc rắn, gồm các hạt nhỏ, khô to, có độ mịn xác định, có chứa một hay nhiều loại dược chất. Ngoài dược chất, thuốc bột còn có thể thêm các tá dược như tá dược độn, tá dược hút, tá dược màu, tá dược điều hương, vị ...

Thuốc bột có thể dùng để uống, để pha tiêm hay để dùng ngoài.

Các yêu cầu chất lượng chung

Tính chất

Quan sát màu sắc bằng mắt thường, dưới ánh sáng tự nhiên, với một lượng bột vừa đủ, được phân tán đều trên một tờ giấy trắng mịn. Bột phải khô to, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Độ ẩm

Xác định độ ẩm thuốc bột theo phương pháp Xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6), hoặc Định lượng nước bằng thuốc thử Karl - Fischer (Phụ lục 10.3), tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Thuốc bột không được chứa hàm lượng nước quá 9,0 %, trừ các chỉ dẫn khác.

Độ mịn

Nếu không có chỉ dẫn khác, độ mịn của thuốc bột được xác định qua phép thử Cỡ bột và rây (Phụ lục 3.5).

Thuốc bột phải đạt độ mịn quy định trong chuyên luận.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2).

Trừ khi có chỉ dẫn khác, phép thử này áp dụng cho thuốc bột để uống, để tiêm, được trình bày trong các đơn vị đóng gói 1 liều, trong đó có các dược chất có hàm lượng dưới 2 mg hoặc dưới 2 % (kl/kl) so với khối lượng bột đóng gói trong 1 liều.

Phép thử đồng đều hàm lượng được tiến hành sau phép thử định lượng và hàm lượng dược chất đã đạt trong giới hạn qui định.

Độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.3)

Những thuốc bột không qui định thử độ đồng đều hàm lượng thì phải thử độ đồng đều khối lượng.

Nếu thuốc bột chứa nhiều hoạt chất, thì chỉ khi tất cả các dược chất đã được thử độ đồng đều hàm lượng mới không thử độ đồng đều khối lượng.

Khi không có chỉ dẫn riêng, độ chênh lệch được tính theo tỷ lệ phần trăm so với khối lượng trung bình bột thuốc trong một đơn vị đóng gói.

Định tính

Theo chuyên luận riêng.

Định lượng

Theo chuyên luận riêng.

Giới hạn nhiễm khuẩn

Các thuốc bột có nguồn gốc dược liệu, nếu không có chỉ dẫn trong chuyên luận riêng, phải đáp ứng yêu cầu Thử giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6).

Ghi nhãn

Đối với thuốc bột trong một đơn vị đóng gói 1 liều phải ghi tên và hàm lượng dược chất.

Thuốc bột đóng gói nhiều liều phải ghi tên, lượng dược chất trên tổng khối lượng.

Trên nhãn phải ghi tên và lượng chất bảo quản chống vi khuẩn, hạn dùng, điều kiện bảo quản.

Bảo quản

Thuốc bột phải được bảo quản trong đồ đựng kín. Để nơi khô mát.

Thuốc bột để uống

Thuốc bột để uống có thể dùng nuốt trực tiếp hoặc được sử dụng sau khi đã hòa tan hay phân tán trong nước hoặc chất lỏng thích hợp. Thuốc bột để uống phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng chung của thuốc bột.

Thuốc bột sủi bọt để uống thường chứa tá dược sủi bọt, gồm các acid hữu cơ và muối carbonat hoặc hydrocarbonat, phản ứng khi có nước để giải phóng khí carbon dioxyd. Thuốc bột sủi bọt để uống phải đáp ứng các yêu cầu chung của thuốc bột. Ngoài ra thuốc bột sủi bọt để uống phải đạt yêu cầu về **Độ tan** như sau:

Độ tan: Cho một lượng bột tương ứng với một liều vào một cốc thủy tinh chứa 200 ml nước ở 15 °C đến 25 °C, xuất hiện nhiều bọt khí bay ra. Khi hết bọt khí, thuốc phải tan hoàn toàn. Thử như vậy với 6 liều đơn. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu mỗi liều thử đều tan trong vòng 5 phút, trừ khi có chỉ dẫn riêng.

Thuốc bột dùng ngoài

Thuốc bột dùng ngoài thường đóng gói nhiều liều, có thể dùng để đắp, rắc trực tiếp lên da, vết thương hoặc được hòa tan, phân tán trong dung môi thích hợp để nhỏ mắt, rửa hoặc thụt.

Thuốc bột dùng ngoài phải đáp ứng các yêu cầu chung của thuốc bột, ngoài ra phải đạt các chỉ tiêu riêng sau:

Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7)

Thuốc bột để đắp, dùng cho vết thương rộng hoặc trên da bị tổn thương nặng, thuốc bột dùng cho mắt phải vô khuẩn.

Độ mịn

Thuốc bột dùng để đắp hoặc rắc phải là bột mịn hoặc rất mịn (Phụ lục 3.5).

Thuốc bột để pha tiêm

Thuốc bột pha tiêm phải đáp ứng các yêu cầu chung của thuốc bột và yêu cầu chất lượng đối với thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền dạng bột (Phụ lục 1.19).

1.8 THUỐC CỐM**Granulae****Định nghĩa**

Thuốc cốm hay thuốc hạt là dạng thuốc rắn có dạng hạt nhỏ xốp hay sợi ngắn xốp, thường dùng để uống với một ít nước hay một chất lỏng thích hợp, hoặc pha thành dung dịch, hỗn dịch hay sirô. Thuốc cốm chứa một hoặc nhiều dược chất, ngoài ra có thêm các tá dược như tá dược độn, tá dược dính, tá dược điều hương vị, tá dược màu...

Các yêu cầu chất lượng chung**Hình thức**

Thuốc cốm phải khô, đồng đều về kích thước hạt, không có hiện tượng hút ẩm, không bị mềm và biến màu.

Độ ẩm

Xác định nước trong các thuốc cốm nói chung theo phương pháp Xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6), trong các thuốc cốm chứa tinh dầu theo phương pháp cất với dung môi (Phụ lục 12.13). Các thuốc cốm có độ ẩm không quá 5,0 %, trừ các chỉ dẫn khác.

Độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.3)

Thuốc cốm không quy định thử độ đồng đều về hàm lượng thì phải thử độ đồng đều khối lượng.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Trừ khi có chỉ dẫn khác, phép thử này áp dụng cho các thuốc cốm đóng gói một liều, có chứa một hoặc nhiều dược chất, phải thử đồng đều hàm lượng với các dược chất có hàm lượng dưới 2 mg hoặc dưới 2 % (kl/kl) so với khối lượng cốm trong 1 liều.

Định tính và định lượng

Theo chuyên luận riêng.

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo quy định trong chuyên luận riêng.

Bảo quản

Thuốc cốm phải được bảo quản trong các đồ đựng kín, đóng từng liều hoặc nhiều liều, có nhãn đúng qui định. Để nơi khô mát.

Cốm sủi bọt

Cốm sủi bọt thường chứa tá dược sủi bọt gồm các acid hữu cơ và muối carbonat hoặc hydrocarbonat, phản ứng khi có nước để giải phóng khí carbon dioxyd. Cốm được hòa tan hoặc phân tán trong nước trước khi dùng.

Cốm sủi bọt phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng chung của thuốc cốm, ngoài ra phải đạt yêu cầu về độ rã như sau:

Độ rã

Cho một lượng cốm đóng gói trong một đơn vị phân liều vào cốc chứa 200 ml nước ở 15 °C đến 25 °C, phải có nhiều bọt khí bay ra. Cốm được coi là rã hết nếu hòa tan hoặc phân tán hết trong nước. Thử với 6 liều, chế phẩm đạt yêu cầu phép thử nếu mỗi liều rã trong vòng 5 phút, trừ khi có các chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

1.9 THUỐC DÁN THẨM QUA DA VÀ THUỐC DÁN TÁC DỤNG TẠI CHỖ

THUỐC DÁN THẨM QUA DA

Định nghĩa

Thuốc dán thẩm qua da là những chế phẩm mềm dẻo với những kích cỡ khác nhau, chứa một hoặc nhiều hoạt chất. Chúng được dán trên những vùng da nguyên vẹn nhằm mục đích đưa hoạt chất thẩm qua da vào hệ thống tuần hoàn gây tác dụng phòng hoặc điều trị bệnh.

Cấu tạo chung

Thuốc dán thẩm qua da có cấu tạo chung gồm một lớp màng nền bao phủ bên ngoài, lớp chứa hoạt chất có bề mặt bất dính và lớp bảo vệ bao phủ lên trên bề mặt bất dính để tránh bị gỡ bỏ trước khi dán lên da.

Lớp màng nền bao phủ bên ngoài thông thường không thấm đối với nước và không thấm đối với hoạt chất, có nhiệm vụ hỗ trợ và bảo vệ lớp chứa hoạt chất. Lớp này có thể có cùng kích thước với lớp chứa hoạt chất hoặc lớn hơn. Trong trường hợp lớn hơn, mép viền xung quanh của lớp màng nền được bao phủ bởi những chất dễ dàng bắt dính khi dán lên da để đảm bảo sự kết dính của thuốc dán lên da.

Lớp chứa hoạt chất: Chứa một hoặc nhiều hoạt chất cùng với các tá dược như các chất ổn định, các chất hòa tan hoặc các chất có mục đích thay đổi tốc độ giải phóng hoặc tăng sự hấp thu qua da. Lớp chứa hoạt chất có thể là một lớp duy nhất hoặc nhiều lớp khung rắn hoặc khung xốp (matrix) nửa rắn và trong trường hợp này, thành phần và cấu trúc của khung xốp xác định kiểu khuếch tán của hoạt chất qua da. Khung xốp có thể chứa các chất giúp dễ dàng kết dính khi dán lên da. Lớp chứa hoạt chất cũng có thể có cấu tạo kiểu bể chứa (reservoir) nửa rắn với một lớp màng kiểm soát (thường là màng polymer) có thể kiểm soát sự giải phóng và khuếch tán của hoạt chất từ chế phẩm. Trong trường hợp này các chất giúp dễ dàng kết dính khi dán có thể bao phủ lên một phần hoặc một vài vị trí trên màng kiểm soát hoặc chỉ xung quanh viền của lớp màng nền.

Khi dán lên vùng da khô, sạch và nguyên vẹn, thuốc dán dễ dàng dính lên da bởi một lực nhẹ nhàng của bàn tay hoặc các ngón tay và có thể bóc ra dễ dàng mà

không làm tổn thương da hoặc chỉ tách ra được lớp màng nền. Thuốc dán không gây mẫn cảm hoặc kích ứng da, thậm chí trong những lần dùng lặp lại.

Lớp bảo vệ thông thường là một lớp nhựa dẻo hoặc kim loại dát mỏng. Khi bóc ra, lớp bảo vệ không được kéo theo cả lớp chứa hoạt chất hoặc các chất giúp kết dính từ miếng dán.

Kỹ thuật bào chế

Chủ yếu sử dụng phương pháp hòa tan với các bước cơ bản như sau:

1. Chế tạo lớp cốt hoặc khung xốp bằng cách trộn polymer, tá dược trong máy khuấy trộn với vận tốc thích hợp.
2. Phối hợp hoạt chất vào hỗn hợp trên.
3. Trải hỗn hợp trên lớp phim không thấm, kiểm soát bề dày lớp trải.
4. Sấy lớp trải hoặc làm khô ở nhiệt độ phòng.
5. Bảo vệ lớp trải bằng một lớp phim tháo gỡ được (thông thường là lớp tráng silicon).
6. Đóng gói sản phẩm.

Yêu cầu chất lượng

Thuốc dán qua da phải đạt các yêu cầu qui định trong chuyên luận riêng và các yêu cầu sau đây:

Tính chất

Thuốc dán qua da phải đồng nhất, có độ bất dính thích hợp (dễ dính và dễ bóc), không gây kích ứng trên da.

Độ đồng đều hàm lượng

Nếu như không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, tiến hành trên 10 đơn vị riêng rẽ được lấy bất kỳ, kết quả được đánh giá theo phương pháp sau:

Chế phẩm đem kiểm tra đạt yêu cầu phép thử nếu hàm lượng trung bình của 10 đơn vị không nằm ngoài giới hạn từ 90 % đến 110 % so với hàm lượng ghi trên nhãn và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 75 % đến 125 % so với hàm lượng trung bình.

Độ đồng đều khối lượng lớp chứa hoạt chất

Nếu phép thử độ đồng đều hàm lượng đã được tiến hành với tất cả các hoạt chất có trong thuốc dán qua da thì không cần phải thử độ đồng đều khối lượng.

Tiến hành trên 20 đơn vị bất kỳ, xác định khối lượng lớp chứa hoạt chất của từng đơn vị và tính khối lượng trung bình của lớp chứa hoạt chất. Cho phép không quá 2 đơn vị có khối lượng lệch ra ngoài 5 % so với khối lượng trung bình và không có đơn vị nào có khối lượng lệch ra ngoài 10 % so với khối lượng trung bình.

Tiến hành: Cân từng đơn vị đã được loại bỏ lớp bảo vệ, ta được khối lượng m_1 , dùng hỗn hợp dung môi hữu cơ phù hợp để rửa hết lớp keo chứa hoạt chất, làm khô, rồi cân lại khối lượng của lớp nền ta được khối lượng m_2 . Khối lượng lớp chứa hoạt chất là hiệu số của m_1 và m_2 .

Độ đồng đều diện tích

Tiến hành trên 20 đơn vị bất kỳ. Đo diện tích của từng đơn vị (tùy hình dạng của thuốc dán là hình tròn hay hình vuông mà có phương pháp đo và tính toán phù hợp), tính diện tích trung bình. Cho phép không quá 2 đơn vị có diện tích lệch ra ngoài 5 % so với diện tích trung bình và không có đơn vị nào có diện tích lệch ra ngoài 10 % so với diện tích trung bình.

Tiến hành: Bóc lớp màng bảo vệ của từng đơn vị, đo và tính diện tích của lớp chứa hoạt chất.

Định tính, định lượng

Theo qui định trong chuyên luận riêng.

Độ hòa tan

Phương pháp thử nghiệm thích hợp được yêu cầu theo từng chuyên luận riêng để chứng minh sự giải phóng của hoạt chất là phù hợp. Thiết bị kiểu giỏ quay, kiểu cánh khuấy hoặc kiểu dòng chảy có thể được sử dụng tùy theo thành phần, kích thước và hình dạng của miếng thuốc dán.

Sự giải phóng hoạt chất qua màng cũng được sử dụng. Màng có thể là màng cellulose hoặc màng silicon và phải không ảnh hưởng đến động học của giải phóng hoạt chất từ miếng thuốc dán. Màng có thể được xử lý một cách phù hợp trước khi thử nghiệm, được lưu giữ trong môi trường thích hợp để sử dụng cho thử nghiệm trong 24 giờ. Đặt bề mặt phóng thích hoạt chất của miếng thuốc dán lên màng, tránh sự hình thành bọt khí.

Điều kiện thử nghiệm và các yêu cầu tiến hành theo chuyên luận riêng.

Thử tính kích ứng

Tiến hành theo quy định hiện hành về “Phương pháp thử tính kích ứng trên da áp dụng cho các sản phẩm dùng trong y tế và mỹ phẩm”.

Bảo quản

Nếu không có qui định khác, chế phẩm được đựng trong bao bì kín, bảo quản nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.

Nhãn

Nhãn ghi rõ nơi dán thuốc, tổng hàm lượng hoạt chất có trong một đơn vị, liều phóng thích cho mỗi đơn vị thời gian và diện tích bề mặt phóng thích và theo đúng qui định về Hướng dẫn ghi nhãn thuốc của Bộ Y tế.

THUỐC DÁN TÁC DỤNG TẠI CHỖ**Định nghĩa**

Thuốc dán tác dụng tại chỗ là những chế phẩm có chứa một hoặc nhiều dược chất trải đều hoặc dính trên một lớp vải hoặc một lớp phim dẻo và có tính bất dính trên da, được chỉ định dán trên da, dược chất và các thành phần khác của thuốc hầu như không thấm qua

da để đi vào hệ tuần hoàn chung, mà chỉ nhằm phát huy tác dụng tại chỗ.

Cấu tạo chung

Cấu tạo tương tự cấu tạo chung của thuốc dán thấm qua da.

Kỹ thuật bào chế

Ngoại trừ các trường hợp đặc biệt, thuốc dán tác dụng tại chỗ thông thường được điều chế bởi phương pháp trộn đều hợp chất cao phân tử trong tự nhiên hoặc tổng hợp có thể tan hoặc không tan trong nước với các dược chất, rồi trộn hoặc dán trên một miếng vải hoặc phim với một hình dạng thích hợp.

Các chất cao phân tử thường gặp: Chất béo, dầu béo, muối của acid béo, sáp, nhựa, chất dẻo, lanolin tinh chế, cao su hoặc một hỗn hợp đồng nhất của các chất trên.

Yêu cầu chất lượng

Thuốc dán tác dụng tại chỗ phải đạt các yêu cầu qui định trong chuyên luận riêng và các yêu cầu chung sau đây:

Tính chất

Phải đồng nhất, có độ bất dính thích hợp (dễ dính và dễ bóc), không gây kích ứng trên da.

Độ đồng đều hàm lượng

Nếu như không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, tiến hành trên 10 đơn vị riêng rẽ được lấy bất kỳ, kết quả được đánh giá theo phương pháp sau:

Chế phẩm đem kiểm tra đạt yêu cầu phép thử nếu hàm lượng trung bình của 10 đơn vị không nằm ngoài giới hạn từ 90 % đến 110 % so với hàm lượng ghi trên nhãn và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 75 % đến 125 % so với hàm lượng trung bình.

Định tính, định lượng

Theo qui định trong chuyên luận riêng.

Độ hòa tan

Phương pháp thử nghiệm thích hợp được yêu cầu theo từng chuyên luận riêng để chứng minh sự giải phóng của hoạt chất là phù hợp. Thiết bị kiểu giỏ quay, kiểu cánh khuấy hoặc kiểu dòng chảy có thể được sử dụng tùy theo thành phần, kích thước và hình dạng của miếng thuốc dán.

Sự giải phóng hoạt chất qua màng cũng được sử dụng. Màng có thể là màng cellulose hoặc màng silicon và phải không ảnh hưởng đến động học của giải phóng hoạt chất từ miếng thuốc dán. Màng có thể được xử lý một cách phù hợp trước khi thử nghiệm, được lưu giữ trong môi trường thích hợp để sử dụng cho thử nghiệm trong 24 giờ. Đặt bề mặt phóng thích hoạt chất của miếng thuốc dán lên màng, tránh sự hình thành bọt khí.

Điều kiện thử nghiệm và các yêu cầu tiến hành theo chuyên luận riêng.

Thử tính kích ứng

Tiến hành theo quy định hiện hành về “Phương pháp thử tính kích ứng trên da áp dụng cho các sản phẩm dùng trong y tế và mỹ phẩm”.

Bảo quản

Nếu không có qui định khác, chế phẩm được đựng trong bao bì kín, bảo quản nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.

Nhãn

Nhãn thuốc phải theo đúng qui định hiện hành.

1.10 THUỐC ĐẶT***Suppositoria*****Định nghĩa**

Thuốc đặt là dạng thuốc rắn, chứa một hoặc nhiều dược chất, dùng để đặt vào các hốc tự nhiên của cơ thể. Thuốc có thể có tác dụng tại chỗ hoặc toàn thân.

Khi đặt vào vị trí trên cơ thể, thuốc đặt thường chảy ra, mềm ở thân nhiệt hoặc hòa tan dần trong niêm dịch để giải phóng dược chất.

Tá dược dùng cho thuốc đặt bao gồm: Bơ cacao và chế phẩm của bơ cacao, hỗn hợp gelatin - glycerin - nước, dầu thực vật hydrogen hóa, glycerid bán tổng hợp, hỗn hợp polyethylen glycol khối lượng phân tử khác nhau (PEG 400, PEG 1500, PEG 1540, PEG 3000, PEG 4000), este của acid béo với PEG.

Phân loại

Thuốc đặt trực tràng: Thường có hình dạng giống như đầu viên đạn (hình nón cụt) hoặc hình thủy lôi, khối lượng khoảng 1 g đến 3 g.

Thuốc đặt âm đạo: Thường có hình trái xoan, khối lượng khoảng 3 g đến 10 g.

Thuốc đặt niệu đạo: Đường kính 1 mm đến 4 mm, chiều dài 6 cm đến 20 cm, khối lượng khoảng 0,5 g đến 4,0 g.

Yêu cầu chất lượng**Độ rã**

Đạt yêu cầu Phép thử độ rã của thuốc đạn và thuốc trứng (Phụ lục 11.5).

Độ đồng đều khối lượng

Đạt yêu cầu Phép thử độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.3).

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Nếu không có chỉ dẫn khác, thuốc đặt đơn liều có hàm lượng hoạt chất dưới 2 mg hoặc dưới 2 % (kl/kl) phải thử độ đồng đều hàm lượng. Đối với chế phẩm có từ 2 dược chất trở lên, chỉ áp dụng yêu cầu này với thành phần có hàm lượng nhỏ như qui định ở trên. Thuốc đặt đã thử độ đồng đều về hàm lượng với tất cả các

dược chất có trong thành phần thì không phải thử độ đồng đều khối lượng.

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Thử theo qui định trong chuyên luận riêng.

Bảo quản: Trong bao bì kín, thích hợp (hộp, màng nhôm, polymer), để nơi mát (nhiệt độ dưới 30 °C).

1.11 THUỐC HOÀN***Pilula*****Định nghĩa**

Thuốc hoàn là dạng thuốc rắn, hình cầu, được bào chế từ bột hoặc cao dược liệu với các loại tá dược thích hợp, thường dùng để uống.

Phân loại

Trong Y học cổ truyền, tùy theo tá dược dính sử dụng mà người ta chia ra các loại hoàn như sau:

Thủy hoàn: Là hoàn được điều chế với tá dược dính là nước, rượu, dấm, dịch chiết dược liệu bằng phương pháp bồi viên và thường là hoàn nhỏ (khối lượng viên dưới 0,5 g).

Hồ hoàn: Là hoàn dùng hồ tinh bột làm tá dược dính, điều chế bằng phương pháp chia viên hay bồi viên, thường là hoàn nhỏ.

Mật hoàn: Là hoàn bào chế với tá dược dính là mật ong. Mật được luyện thành châu, trộn với bột thuốc khi còn nóng và bào chế hoàn bằng phương pháp chia viên. Hoàn mật thường gọi là "tế", khối lượng có thể đến 12 gam, có thể chất nhuận đẻo.

Lạp hoàn: Lạp hoàn được điều chế với sáp ong bằng cách đun chảy và vè viên ở nhiệt độ gần nhiệt độ đông rắn của sáp, thường có khối lượng từ 0,3 g đến 0,5 g.

Phương pháp điều chế

Thuốc hoàn được điều chế bằng 2 phương pháp: Chia viên và bồi viên.

Phương pháp chia viên: Áp dụng khi dùng các tá dược dính có độ nhớt cao như mật, hồ, sáp. Bột thuốc được trộn với tá dược dính ở nhiệt độ thích hợp thành khối bánh viên đồng nhất rồi chia viên bằng bàn hay máy chia viên.

Phương pháp bồi viên: Áp dụng cho các tá dược có độ dính thấp như nước, dịch chiết dược liệu, hồ loãng, sirô hay mật ong pha loãng. Tá dược dính lỏng và bột thuốc được bồi dần từng lớp lên nhân đã gây sẵn kết hợp với sấy cho đến khi viên đạt kích thước yêu cầu.

Thuốc hoàn có thể được bao bằng các lớp áo khác nhau để bảo quản hay tăng giá trị thẩm mỹ, viên hoàn mềm thường được đóng trong vỏ sáp.

Yêu cầu chất lượng

Nếu không có quy định riêng trong chuyên luận, bột thuốc dùng bào chế thuốc hoàn phải là bột mịn hay rất mịn.

Mật ong dùng trong viên hoàn thường là loại mật luyện: Thêm khoảng 20 % nước vào mật, đun sôi vớt bỏ bọt rồi lọc qua gạc và cô nhỏ lửa cho đến khi giọt mật thành "châu" (không tan trong nước lạnh).

Hình thức

Hoàn phải tròn, đều, đồng nhất về hình dạng, màu sắc khi bảo quản, có mùi đặc trưng của dược liệu. Hoàn mềm phải nhuần, dẻo.

Hàm ẩm

Hoàn mật ong, hoàn chứa cao đặc: Không quá 15 %.
Hoàn nước có kết hợp sirô, mật ong: Không quá 12 %.
Hoàn nước và hoàn hồ: Không quá 9 % (hoàn sáp không xác định hàm ẩm).

Tiến hành theo phương pháp Xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6) hoặc Xác định hàm lượng nước bằng phương pháp cất với dung môi (Phụ lục 12.13).

Độ rã

Chỉ áp dụng cho hoàn cứng: Viên rã trong vòng 1 giờ (riêng hoàn hồ trong vòng 2 giờ, hoàn sáp thử theo viên bao tan trong ruột).

Tiến hành theo Phép thử độ rã của viên nén và viên nang (Phụ lục 11.6).

Độ đồng đều khối lượng

Đối với hoàn uống theo số viên:

Cân 10 viên, xác định khối lượng từng viên. Sự chênh lệch khối lượng của từng viên so với khối lượng trung bình phải nằm trong giới hạn ở Bảng 1.11.1, trong đó, không được có quá 2 viên vượt giới hạn cho phép và không được có viên nào gấp đôi giới hạn cho phép.

Bảng 1.11.1

Khối lượng trung bình 1 viên	Giới hạn cho phép
Từ 0,05 g đến 1,5 g	± 12 %
Trên 1,5 g đến 5 g	± 10 %
Trên 5,0 g đến 9,0 g	± 7 %
Trên 9,0 g	± 5 %

Đối với hoàn uống theo gam:

Cân 10 phần, mỗi phần 10 viên, xác định khối lượng trung bình chung. Sự chênh lệch khối lượng của từng phần so với khối lượng trung bình phải nằm trong giới hạn ở Bảng 1.11.2, trong đó, không được có quá 2 phần vượt giới hạn cho phép và không được có phần nào gấp đôi giới hạn cho phép.

Bảng 1.11.2

Khối lượng trung bình 1 viên	Giới hạn cho phép
Từ 0,05 g đến 0,1 g	± 12 %
Trên 0,1 g đến 1,0 g	± 10 %
Trên 1,0 g	± 7 %

Đối với đơn vị đóng gói đã chia liều:

Lấy 10 gói, cân từng gói. Sự chênh lệch khối lượng của từng gói so với khối lượng trên nhãn phải nằm trong giới hạn ở Bảng 1.11.3, trong đó, không được có quá 2 gói vượt giới hạn cho phép và không được có gói nào gấp đôi giới hạn đó.

Bảng 1.11.3

Khối lượng trên nhãn	Giới hạn cho phép
Từ 0,5 g trở xuống	± 12 %
Trên 0,5 g đến 1,0 g	± 11 %
Trên 1,0 g đến 2,0 g	± 10 %
Trên 2,0 g đến 3,0 g	± 8 %
Trên 3,0 g đến 6,0 g	± 6 %
Trên 6,0 g đến 9,0 g	± 5 %
Trên 9,0 g	± 4 %

Định tính, định lượng

Đáp ứng theo quy định trong chuyên luận riêng.

Độ nhiễm khuẩn

Thuốc hoàn phải đạt yêu cầu về độ nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6).

1.12. THUỐC MỀM DÙNG TRÊN DA VÀ NIÊM MẠC

Praeparationes molles ad usum dermicum

Định nghĩa

Dạng thuốc có thể chất mềm, đồng nhất dùng để bôi lên da và niêm mạc nhằm gây tác dụng tại chỗ hoặc đưa dược chất thấm qua da và niêm mạc, làm trơn hoặc bảo vệ.

Thành phần của thuốc gồm một hay nhiều dược chất, được hòa tan hay phân tán đồng đều trong một hoặc hỗn hợp tá dược, thuộc hệ phân tán một pha hoặc nhiều pha.

Tá dược sử dụng có nguồn gốc thiên nhiên hoặc tổng hợp, thân dầu hay thân nước. Ngoài ra, trong thành phần tá dược còn có thêm chất bảo quản, chất chống oxy hóa, chất ổn định, chất nhũ hóa, chất làm thơm và các chất làm tăng tính thấm của dược chất.

Phân loại:

- Thuốc mỡ (ointments)
- Bột nhão (pastes)
- Kem (creams)
- Gel (gels).

Yêu cầu chất lượng chung

Độ đồng nhất

Cách thử: Lấy 4 đơn vị đóng gói, mỗi đơn vị khoảng 0,02 g đến 0,03 g, trải đều chế phẩm trên 4 phiến kính. Đậy mỗi phiến kính bằng một phiến kính thứ 2 và ép mạnh cho tới khi tạo thành một vết có đường

kính khoảng 2 cm. Quan sát vết thu được bằng mắt thường (cách mắt khoảng 30 cm), ở 3 trong 4 tiêu bản không được nhận thấy các tiểu phân. Nếu có các tiểu phân nhìn thấy ở trong phần lớn số các vết thì phải làm lại với 8 đơn vị đóng gói. Trong số các tiêu bản này, các tiểu phân cho phép nhận thấy không được vượt quá 2 tiêu bản.

Độ đồng đều khối lượng

Đạt yêu cầu Phép thử độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.3).

Độ nhiễm khuẩn

Đạt yêu cầu Phép thử giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6).

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Thử theo quy định trong chuyên luận riêng.

Bảo quản

Trong chai, lọ, tuýp kín chế tạo bằng vật liệu phù hợp (kim loại, polyme). Nếu chế phẩm vô khuẩn, cần bảo quản kín, vô khuẩn.

Thuốc mỡ

Định nghĩa

Tùy theo cách phối hợp và sử dụng tá dược, thuốc mỡ được chia ra 3 loại:

Thuốc mỡ thân dầu

Thuốc mỡ thân dầu có thể hút (hấp phụ) một lượng nhỏ nước hoặc dung môi phân cực. Tá dược điển hình gồm: Nhóm hydrocarbon no (vaselin, dầu parafin, parafin rắn), dầu, mỡ có nguồn gốc động vật, thực vật, glycerid bán tổng hợp, sáp và polyalkylsiloxan lỏng.

Thuốc mỡ thân nước

Thuốc mỡ thân nước có thể trộn lẫn với nước. Tá dược thường dùng là polyethylen glycol (macrogol, carbowax).

Thuốc mỡ nhũ hóa thân nước

Thuốc mỡ nhũ hóa thân nước có thể hút được một lượng lớn nước và chất lỏng phân cực để tạo thành nhũ tương nước-dầu (N/D) hoặc dầu-nước (D/N), tùy thuộc vào bản chất chất nhũ hóa có trong thành phần tá dược. Chất nhũ hóa cho nhũ tương N/D gồm: lanolin, este sorbitan (Span), monoglycerid và alcol béo. Chất nhũ hóa cho nhũ tương D/N gồm: Alcol béo sulfat, polysorbat (Tween), ether hoặc este của acid béo với polyethylen glycol.

Thuốc mỡ tra mắt

Thuốc mỡ tra mắt là những chế phẩm thuốc mỡ dùng cho mắt, chứa một hoặc nhiều dược chất hòa tan hoặc phân tán trong tá dược, được xếp vào nhóm các chế phẩm vô khuẩn. Tá dược và dược chất dùng cho thuốc mỡ tra mắt phải không bị phân hủy khi tiếp xúc bằng nhiệt.

Ngoài các yêu cầu của thuốc mỡ nói chung, thuốc mỡ tra mắt phải đạt các yêu cầu sau:

Thử vô khuẩn

Đạt yêu cầu Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7)

Các phần tử kim loại

Cách thử: Trừ trường hợp có chỉ dẫn riêng, lấy 10 tuýp thuốc, bóp hết thuốc chứa bên trong vào từng đĩa Petri riêng có đường kính 6 cm, đáy bằng, không có các vết xước và các phần tử lạ nhìn thấy được. Đậy các đĩa, đun nóng đến 80 °C đến 85 °C trong 2 giờ và để cho thuốc mỡ phân tán đồng đều. Làm nguội cho thuốc mỡ đông lại, lật ngược mỗi đĩa, đặt lên bản soi của kính hiển vi thích hợp. Chiếu sáng từ trên xuống bằng một đèn chiếu đặt ở góc 45° so với mặt phẳng của bản soi. Quan sát và đếm các phần tử kim loại sáng bóng, lớn hơn 50 µm ở bất kỳ kích thước nào. Không được có quá một tuýp trong 10 tuýp thuốc đem thử chứa nhiều hơn 8 phần tử và không được quá 50 phần tử tìm thấy trong 10 tuýp. Nếu chế phẩm không đạt ở lần thử thứ nhất, làm lại lần thử thứ hai với 20 tuýp thuốc khác. Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu nếu không có quá 3 tuýp chứa quá 8 phần tử trong mỗi tuýp và tổng số không quá 150 phần tử trong 30 tuýp thử.

Giới hạn kích thước các phần tử

Trải một lượng nhỏ chế phẩm thành một lớp mỏng trên bản soi của kính hiển vi, phủ phiến kính lên trên và soi. Không được có phần tử nào của thuốc có kích thước lớn hơn 75 µm.

Bảo quản

Đựng trong lọ, tuýp có nắp hoặc nút kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Bao bì đựng thuốc mỡ tra mắt phải bền ở nhiệt độ diệt khuẩn và không ảnh hưởng tới chất lượng của thuốc.

Bột nhão

Bột nhão bôi da là các chế phẩm nửa rắn, chứa một tỷ lệ lớn dược chất rắn phân tán trong tá dược.

Kem

Kem bôi da là những chế phẩm thuộc hệ phân tán nhiều pha, bao gồm: Pha dầu, pha nước và chất nhũ hóa.

Kem N/D: Pha nội thân nước, pha ngoại (pha liên tục) thân dầu. Trong thành phần có các chất nhũ hóa tạo nhũ tương N/D như: Lanolin, este sorbitan (Span), monoglycerid và alcol béo.

Kem D/N: Pha nội thân dầu, pha ngoại (pha liên tục) thân nước. Trong thành phần có các chất nhũ hóa tạo nhũ tương D/N như: Xà phòng kiềm hóa trị một (natri, kali), xà phòng amin (mono, di và triethanolamin), alcol béo sulfat, polysorbat (Tween), ether hoặc este của acid béo với polyethylen glycol.

Gel

Gel bôi da và niêm mạc là những chế phẩm thể chất mềm, sử dụng tá dược tạo gel thích hợp.

Gel thân dầu (oleogels): Trong thành phần sử dụng tá dược tạo gel, bao gồm dầu parafin phối hợp với tá dược thân dầu khác, có thêm keo silic, xà phòng nhôm hoặc xà phòng kẽm.

Gel thân nước (hydrogels): Thành phần bao gồm nước, glycerin, propylen glycol, có thêm các tá dược tạo gel như polysaccharid (tinh bột, tinh bột biến tính, acid alginic và natri alginat), dẫn chất cellulose, polyme của acid acrylic (carbomer, carbomer copolymer, carbomer interpolymer, methyl acrylat) và các chất vô cơ (magnesi - nhôm silicat).

1.13 THUỐC NANG

Capsulae

Định nghĩa

Thuốc nang là dạng thuốc uống chứa một hay nhiều dược chất trong vỏ nang với nhiều hình dạng và kích thước khác nhau. Vỏ nang được làm chủ yếu từ gelatin hoặc polyme như HPMC... Ngoài ra trong vỏ nang còn chứa các tá dược khác như chất hóa dẻo, chất màu, chất bảo quản...

Thuốc chứa trong nang có thể là dạng rắn (bột, cốm, pellet...) hay lỏng, nửa rắn (hỗn dịch, nhũ tương, bột nhão...).

Yêu cầu chất lượng chung

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Nếu không có chỉ dẫn khác, yêu cầu này áp dụng cho các thuốc nang có chứa một hoặc nhiều dược chất, trong đó có các dược chất có hàm lượng dưới 2 mg hoặc dưới 2 % (kl/kl) so với khối lượng thuốc trong 1 nang. Đối với nang có từ 2 dược chất trở lên, chỉ thử độ đồng đều hàm lượng với thành phần nào có hàm lượng nhỏ như qui định ở trên. Yêu cầu này không áp dụng cho các nang thuốc chứa nhiều vitamin và các nguyên tố vi lượng.

Độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.3)

Nếu phép thử độ đồng đều hàm lượng đã được tiến hành với tất cả các dược chất có trong nang thì không phải thử độ đồng đều khối lượng.

Định tính, định lượng, tạp chất (nếu có)

Theo qui định trong chuyên luận riêng.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Các thuốc nang có yêu cầu thử độ hòa tan sẽ có qui định cụ thể trong chuyên luận riêng. Không yêu cầu thử độ rã đối với thuốc nang đã thử độ hòa tan.

Bảo quản

Bảo quản trong bao bì kín, nhiệt độ không quá 30 °C.

Thuốc nang cứng

Vỏ nang cứng gồm nắp nang và thân nang hình trụ lồng khít vào nhau bằng khớp trên vỏ nang hoặc được

hàn kín sau khi đóng thuốc. Thuốc đóng trong nang thường ở dạng rắn (bột, hạt...). Quá trình chế tạo vỏ và đóng thuốc được thực hiện riêng.

Ngoài các yêu cầu chung của thuốc nang, thuốc nang cứng phải đạt các yêu cầu sau:

Độ rã (Phụ lục 11.6)

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, dùng nước làm môi trường thử, thời gian rã phải trong vòng 30 phút. Nếu thử trong môi trường nước không đạt, thay nước bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1N (TT)* hoặc *dịch dạ dày giả (TT)*. Nếu nang nổi trên mặt nước, có thể dùng đĩa đè nên.

Thuốc nang mềm

Thuốc nang mềm là một khối mềm chứa dược chất và tá dược đóng trong vỏ kín với nhiều hình dạng và kích cỡ khác nhau. Vỏ nang mềm làm bằng hỗn hợp gelatin, chất hóa dẻo, chất màu, chất bảo quản...

Thuốc đóng trong nang mềm thường ở dạng lỏng, dung dịch, hỗn dịch hay nhũ tương. Quá trình chế tạo vỏ và đóng thuốc được thực hiện đồng thời.

Thuốc nang mềm dùng để uống hoặc để đặt.

Ngoài các yêu cầu chung của thuốc nang, thuốc nang mềm phải đạt các yêu cầu sau:

Độ rã (Phụ lục 11.6)

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, dùng nước làm môi trường thử, cho đĩa vào mỗi ống thử, thời gian rã phải trong vòng 30 phút. Nếu thử trong môi trường nước không đạt, thay nước bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1N (TT)* hoặc *dịch dạ dày giả (TT)*.

Nếu dược chất có tương tác với đĩa, có thể thử không dùng đĩa.

Nếu nang không rã do dính vào đĩa, thử lại với 6 viên khác không dùng đĩa. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu cả 6 viên đều rã.

Thuốc nang tan trong ruột

Thuốc nang tan trong ruột là các nang cứng hay nang mềm có vỏ nang hoặc hạt đóng nang rã trong dịch ruột. Đối với các thuốc nang đóng hạt được bao tan ở ruột phải tiến hành thử độ hòa tan để kiểm tra sự giải phóng dược chất theo Phụ lục 11.4 và theo chuyên luận riêng.

Ngoài các yêu cầu chung của thuốc nang, thuốc nang tan trong ruột phải đáp ứng được các yêu cầu:

Độ rã

Đối với thuốc nang có vỏ nang bền với dịch dạ dày phải thử độ rã (Phụ lục 11.6). Dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)* làm môi trường thử. Không dùng đĩa, nếu không có chỉ dẫn gì khác, vận hành thiết bị thử trong 2 giờ. Không có nang nào được rã hoặc nứt vỡ làm thuốc trong nang lọt ra ngoài.

Thay dung dịch acid bằng *dung dịch đệm phosphat pH 6,8*. Cho đĩa vào mỗi ống thử, vận hành thiết bị

thử trong 60 phút. Kiểm tra từng nang, cả 6 nang phải rã hết. Nếu nang không rã do dính vào đĩa, thử lại với 6 viên khác không dùng đĩa. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu cả 6 viên đều rã.

Thuốc nang tác dụng kéo dài

Thuốc nang tác dụng kéo dài là thuốc nang cứng hay nang mềm, trong đó vỏ nang hay thuốc trong nang (hoặc cả 2) được bào chế để được chất giải phóng kéo dài. Ngoài các yêu cầu chung của thuốc nang, thuốc nang tác dụng kéo dài phải thử độ hòa tan theo yêu cầu qui định trong chuyên luận riêng.

1.14 THUỐC NHỎ MẮT

Collyria

Định nghĩa

Thuốc nhỏ mắt là dung dịch nước, dung dịch dầu hoặc hỗn dịch vô khuẩn của một hay nhiều hoạt chất, dùng để nhỏ vào mắt. Chế phẩm cũng có thể được bào chế dưới dạng khô (bột, bột đông khô, viên nén) vô khuẩn, được hòa tan hoặc phân tán vào một chất lỏng vô khuẩn thích hợp khi dùng.

Yêu cầu chung

Thuốc nhỏ mắt phải được pha chế - sản xuất trong điều kiện vô khuẩn. Các dụng cụ, thiết bị và đồ đựng dùng trong pha chế - sản xuất phải sạch và vô khuẩn. Dung môi để pha chế thuốc nhỏ mắt thường là nước tinh khiết hoặc các dung dịch nước thích hợp hoặc là dầu thực vật trung tính đạt tiêu chuẩn để pha thuốc tiêm.

Trong thành phần của thuốc nhỏ mắt có thể có thêm các tá dược, để điều chỉnh độ đẳng trương, độ nhớt, điều chỉnh hay ổn định pH của chế phẩm, tăng độ tan và độ ổn định của hoạt chất, nhưng không được ảnh hưởng xấu đến tác dụng của thuốc và không gây kích ứng đối với mắt ở nồng độ sử dụng trong chế phẩm.

Những chế phẩm thuốc nhỏ mắt nước đóng nhiều liều trong một đơn vị đóng gói phải cho thêm chất sát khuẩn với nồng độ thích hợp, trừ khi tự chế phẩm có đủ tính chất sát khuẩn. Chất sát khuẩn phải không tương kỵ với các thành phần khác có trong chế phẩm và phải duy trì được hiệu quả sát khuẩn trong thời gian sử dụng chế phẩm kể từ lần mở nắp đầu tiên.

Không được thêm chất sát khuẩn hoặc chất chống oxy hóa vào các thuốc nhỏ mắt dùng cho phẫu thuật ở mắt. Các thuốc nhỏ mắt này phải pha chế - sản xuất trong điều kiện vô khuẩn và đóng gói một liều.

Không được cho thêm chất màu vào thuốc nhỏ mắt chỉ với mục đích nhuộm màu chế phẩm.

Đồ đựng thuốc nhỏ mắt phải có đủ độ trong cần thiết để kiểm tra được bằng mắt độ trong của dung dịch hay độ đồng nhất của hỗn dịch nhỏ mắt chứa trong đó. Đồ

đựng thuốc nhỏ mắt phải vô khuẩn và không có tương tác về mặt vật lý hay hóa học với thuốc. Đồ đựng thuốc nhỏ mắt phải đáp ứng các yêu cầu nêu trong Phụ lục 17.3.3. Đồ đựng thuốc nhỏ mắt chứa nhiều liều phải có bộ phận nhỏ giọt thích hợp, thể tích mỗi đơn vị đóng gói không nên vượt quá 10 ml.

Ghi nhãn: Nhãn thuốc nhỏ mắt phải ghi theo quy chế. Nhãn phải ghi tên chất sát khuẩn có trong chế phẩm. Đối với đơn vị đóng gói nhiều liều, trên nhãn phải ghi rõ thời hạn sử dụng tính từ khi thuốc được sử dụng lần đầu, sau thời gian đó thuốc còn lại phải bỏ đi, thường không quá 4 tuần, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Yêu cầu chất lượng

Độ trong (Thử theo Phụ lục 11.8. Phần B)

Dung dịch thuốc nhỏ mắt phải trong suốt, không có các tiểu phân quan sát được bằng mắt thường. Hỗn dịch nhỏ mắt có thể lắng đọng khi để yên nhưng phải dễ dàng phân tán đồng nhất khi lắc và phải duy trì được sự phân tán đồng nhất đó trong khi nhỏ thuốc để sử dụng đúng liều.

Kích thước tiểu phân (Thử theo Phụ lục 11.8. Phần A)

Nếu không có chỉ dẫn khác, thuốc nhỏ mắt dạng hỗn dịch phải đạt yêu cầu của phép thử sau: Lắc mạnh và chuyển một lượng chế phẩm tương đương với khoảng 10 µg pha rắn vào buồng đếm hoặc lên một phiến kính thích hợp và quan sát dưới kính hiển vi có độ phóng đại thích hợp. Không được có quá 20 tiểu phân có kích thước lớn hơn 25 µm và không có quá 2 tiểu phân có kích thước lớn hơn 50 µm, không có tiểu phân nào có kích thước lớn hơn 90 µm.

Thử vô khuẩn

Đạt yêu cầu Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Giới hạn cho phép về thể tích

+ 10 % (Phụ lục 11.1).

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Thử theo quy định trong chuyên luận riêng.

Đối với dạng chế phẩm khô, dùng để pha thuốc nhỏ mắt trước khi dùng, sau khi pha phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng của thuốc nhỏ mắt. Đối với chế phẩm đóng liều đơn phải đáp ứng các yêu cầu về phép thử độ đồng đều hàm lượng hoặc độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.2 hoặc 11.3), trừ khi có chỉ dẫn khác.

Đối với các dung dịch dùng để rửa mắt, ngâm mắt hoặc để thấm vào băng mắt, nhất thiết phải là các dung dịch đẳng trương với dịch nước mắt và phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng của thuốc nhỏ mắt. Thuốc rửa mắt dùng trong phẫu thuật hoặc trong điều trị sơ cứu về mắt, không được chứa chất sát khuẩn, phải pha chế vô khuẩn và đóng gói một liều. Thuốc rửa mắt đóng nhiều liều phải có chất sát khuẩn ở nồng độ thích hợp và không đóng gói quá thể tích 200 ml cho một đơn vị đóng gói nhỏ nhất.

1.15 THUỐC NHỎ MŨI VÀ THUỐC XỊT MŨI DẠNG LÔNG

Định nghĩa

Thuốc nhỏ mũi và thuốc xịt mũi dạng lỏng là các dung dịch, nhũ tương hay hỗn dịch dùng để nhỏ hoặc bơm xịt vào trong hốc mũi để gây tác dụng tại chỗ hay toàn thân.

Thuốc nhỏ mũi thường được đóng vào lọ chứa đa liều có gắn bộ phận nhỏ giọt thích hợp. Thuốc xịt mũi dạng lỏng được đóng vào trong lọ chứa có gắn bộ phận phun hoặc đóng vào lọ dưới áp suất cao có hoặc không có van phân liều. Kích thước của các giọt thuốc khi phun ra phải cho phép thuốc bám được vào trong hốc mũi.

Phương pháp điều chế

Điều chế theo phương pháp thích hợp tùy theo thuốc là dung dịch, hỗn dịch hay nhũ tương.

Các chế phẩm có chất dẫn là nước thường phải đẳng trương và có thể cho thêm tá dược để điều chỉnh độ nhớt, điều chỉnh hay ổn định pH, để tăng tính tan của hoạt chất hay để ổn định chế phẩm.

Trong sản xuất, đóng gói, tồn trữ và phân phối, phải có những biện pháp thích hợp để đảm bảo yêu cầu về giới hạn vi sinh vật. Đối với các chế phẩm vô khuẩn, phải điều chế với các nguyên liệu và phương pháp thích hợp để đảm bảo tính vô khuẩn, tránh ô nhiễm và ngăn cản sự phát triển của các vi sinh vật.

Thuốc nhỏ mũi đóng trong lọ chứa đa liều và thuốc xịt mũi có sử dụng chất dẫn là nước, phải cho thêm chất bảo quản ở nồng độ thích hợp trừ trường hợp bản thân chế phẩm có tính sát khuẩn.

Yêu cầu chất lượng

Đạt yêu cầu chất lượng theo các chuyên luận riêng.

Chế phẩm không được gây kích ứng và gây ảnh hưởng đến chức năng của màng nhầy và hệ lông trong mũi.

Khi bảo quản, các chế phẩm dạng nhũ tương có thể có hiện tượng tách pha; dạng hỗn dịch có thể có hiện tượng lắng cặn xuống đáy lọ nhưng phải dễ dàng phân tán đều trở lại khi lắc để phân chia liều được chính xác.

Chế phẩm dạng hỗn dịch phải kiểm soát kích thước thích hợp của các tiểu phân tùy theo mục đích sử dụng.

Đồ đựng thuốc nhỏ mũi phải đáp ứng các yêu cầu nêu trong Phụ lục 17.1 hoặc 17.3.

Trừ khi có chỉ dẫn khác, thuốc nhỏ mũi được cung cấp dưới dạng đơn liều và các thuốc xịt mũi phân liều có tác động toàn thân, phải đáp ứng các yêu cầu của các thử nghiệm sau:

Độ đồng đều khối lượng

Thuốc nhỏ mũi đơn liều dạng dung dịch phải đáp ứng yêu cầu của thử nghiệm sau:

Cân riêng từng lượng thuốc được lấy cẩn thận ra từ 10 lọ và xác định khối lượng trung bình thuốc trong lọ.

Không được có quá 2 đơn vị lệch hơn 10 % và không có đơn vị nào lệch hơn 20 % so với khối lượng trung bình của thuốc.

Thuốc xịt mũi phân liều dạng dung dịch phải đáp ứng yêu cầu của thử nghiệm sau:

Xịt bỏ liều đầu tiên, đợi ít nhất 5 giây, xịt bỏ tiếp một lần nữa. Lặp lại quy trình này 3 lần nữa. Cân khối lượng của lọ thuốc, xịt bỏ một liều và cân khối lượng còn lại của lọ thuốc. Tính chênh lệch giữa hai khối lượng. Lặp lại quy trình như trên với 9 lọ thuốc xịt khác. Chế phẩm đạt yêu cầu của thử nghiệm nếu không có quá 2 giá trị lệch hơn 25 % và không có giá trị nào lệch hơn 35 % so với giá trị trung bình.

Độ đồng đều hàm lượng

Thuốc nhỏ mũi đơn liều dạng hỗn dịch hoặc nhũ tương phải đáp ứng thử nghiệm sau:

Lấy hết thuốc trong mỗi lọ ra và xác định hàm lượng riêng của thuốc trong từng lọ. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của Phụ lục 11.2.

Độ đồng đều phân liều

Thuốc xịt mũi phân liều dạng hỗn dịch hay nhũ tương phải đáp ứng theo thử nghiệm sau:

Dùng một dụng cụ có khả năng giữ lại số lượng thuốc vừa phun ra khỏi bộ phận phun. Lắc lọ thuốc trong 5 giây và xịt bỏ liều đầu tiên, đợi ít nhất 5 giây, lắc trong 5 giây và xịt bỏ tiếp một lần nữa. Lặp lại quy trình này 3 lần nữa. Sau 2 giây, xịt một liều thuốc vào trong dụng cụ hứng. Rửa dụng cụ hứng nhiều lần để thu hồi lại liều thuốc. Xác định hàm lượng của hoạt chất trong nước rửa. Lặp lại quy trình như trên với 9 lọ thuốc khác. Nếu không có chỉ dẫn khác, chế phẩm đáp ứng thử nghiệm nếu không có quá một liều vượt ngoài giới hạn 75 % đến 125 % và không có giá trị nào vượt ngoài giới hạn 65 % đến 135 % so với giá trị trung bình của 10 liều (lấy từ 10 lọ). Nếu có 2 hoặc 3 giá trị vượt qua giới hạn 75 % đến 125 % nhưng vẫn nằm trong giới hạn 65 % đến 135 %, lặp lại thử nghiệm với 20 lọ thuốc nữa. Chế phẩm đáp ứng thử nghiệm nếu không có quá 3 trong số 30 lọ vượt ra ngoài giới hạn 75 % đến 125 % và không có giá trị nào vượt ngoài giới hạn 65 % đến 135 % so với giá trị trung bình của 30 lọ.

Thể tích

+ 10 % thể tích ghi trên nhãn (Phụ lục 11.1).

Giới hạn nhiễm khuẩn

Đạt yêu cầu qui định trong Phụ lục 13.6.

Bảo quản

Đối với các thuốc vô khuẩn, bảo quản thuốc trong chai lọ vô khuẩn, kín, có niêm bảo đảm.

Các thuốc xịt mũi được đóng vào các lọ dưới áp suất cao phải được để nơi mát, xa nguồn nhiệt.

Nhãn phải ghi tên và nồng độ (hàm lượng) của chất bảo quản.

1.16 THUỐC NHỎ TAI VÀ THUỐC XỊT VÀO TAI**Định nghĩa**

Thuốc nhỏ tai và thuốc xịt vào tai là các dung dịch, hỗn dịch hay nhũ tương của một hoặc nhiều dược chất trong các chất lỏng thích hợp (như nước, các glycol hoặc dầu béo) để đưa vào trong hốc tai nhưng không được gây ra áp lực có hại lên màng nhĩ. Thuốc cũng có thể dùng bôi vào hốc tai nhờ một que bông được tẩm thuốc.

Thuốc nhỏ tai thường được đóng gói trong các lọ chứa đa liều làm bằng thủy tinh hay chất dẻo thích hợp có gắn hoặc kèm theo một bộ phận thích hợp để nhỏ giọt. Các thuốc xịt vào tai thường được đóng gói trong các lọ chứa đa liều gắn theo một bộ phận để phun thuốc. Các bộ phận này được thiết kế sao cho tránh sự gây nhiễm.

Phương pháp điều chế

Điều chế theo phương pháp thích hợp tùy theo thuốc là dung dịch, hỗn dịch hay nhũ tương.

Có thể cho thêm các tá dược để điều chỉnh độ đẳng trương, độ nhớt, điều chỉnh hay ổn định pH, tăng tính tan của dược chất hoặc ổn định chế phẩm. Các tá dược này không được làm giảm tác dụng trị liệu của thuốc hay gây độc tính hoặc gây kích ứng tại chỗ ở nồng độ sử dụng.

Trừ khi có chỉ dẫn khác, các thuốc nhỏ tai và thuốc xịt có chất dẫn là nước khi được đóng gói trong lọ chứa đa liều phải được cho thêm vào các chất bảo quản ở nồng độ thích hợp trừ khi bản thân chế phẩm có tính sát khuẩn.

Thuốc dùng để điều trị tai bị tổn thương, đặc biệt khi màng nhĩ bị thủng hay để sử dụng trước khi phẫu thuật, phải vô khuẩn, không được chứa các chất bảo quản và được cung cấp trong lọ chứa đơn liều. Khi đó thuốc được điều chế với các nguyên liệu và phương pháp thích hợp để đảm bảo tính vô khuẩn, tránh ô nhiễm và tránh sự phát triển của các vi sinh vật.

Yêu cầu chất lượng

Đạt yêu cầu chất lượng theo các chuyên luận riêng.

Khi bảo quản, chế phẩm dạng nhũ tương có thể có hiện tượng tách pha nhưng phải dễ dàng phân tán đều trở lại khi lắc.

Chế phẩm dạng hỗn dịch khi bảo quản có thể có hiện tượng lắng cặn nhưng phải dễ dàng phân tán đều trở lại khi lắc và duy trì tình trạng ổn định này đủ để cho phép phân liều chính xác. Có biện pháp kiểm soát để đảm bảo kích thước tiểu phân phù hợp tùy theo mục đích sử dụng.

Đồ đựng thuốc nhỏ mũi phải đáp ứng các yêu cầu nêu trong Phụ lục 17.1 hoặc 17.3.

Độ đồng đều hàm lượng

Trừ khi có chỉ dẫn riêng, các chế phẩm đơn liều có hàm lượng dược chất dưới 2 mg hay chiếm dưới

2 % khối lượng của đơn vị phân liều và các thuốc xịt phân liều phải đáp ứng yêu cầu của Phụ lục 11.2 Phép thử độ đồng đều hàm lượng. Nếu thuốc có nhiều dược chất, yêu cầu này được áp dụng cho thành phần có các điều kiện như trên.

Độ đồng đều khối lượng

Các chế phẩm đơn liều phải đạt yêu cầu của Phụ lục 11.3 Phép thử độ đồng đều khối lượng. Nếu đã thử độ đồng đều hàm lượng của tất cả các dược chất thì không phải thử độ đồng đều khối lượng.

Giới hạn nhiễm khuẩn

Đạt yêu cầu qui định trong Phụ lục 13.6.

Nếu có yêu cầu vô khuẩn, thuốc phải đạt các yêu cầu của thử nghiệm về *Thử vô khuẩn* (Phụ lục 13.7) và tính chất này phải được ghi trên nhãn thuốc.

Thể tích

+ 10 % thể tích ghi trên nhãn (Phụ lục 11.1).

Bảo quản

Đối với các thuốc vô khuẩn, bảo quản thuốc trong chai lọ vô khuẩn, kín.

Thuốc xịt được đóng gói trong các lọ chứa đóng dưới áp suất cao được bảo quản nơi mát, xa nguồn nhiệt.

Nhãn đạt theo quy định hiện hành và có ghi tên của chất bảo quản và thời hạn sử dụng sau khi mở nút (thường không quá 4 tuần trừ khi có chỉ dẫn khác).

1.17 THUỐC HÍT**Inhalationis****Định nghĩa**

Thuốc hít là dạng bào chế rắn hoặc lỏng, đóng gói kín, khi dùng thuốc sẽ bay hơi, thăng hoa trong không khí hoặc do khí đẩy tạo ra những hạt thuốc mịn phân tán trong khí để hít vào đường hô hấp, có tác dụng tại chỗ hoặc toàn thân.

Thuốc hít chứa một hoặc nhiều hoạt chất hòa tan trong dung môi hoặc phân tán đều trong khối thuốc và các tá dược thích hợp như chất dẫn, chất sát trùng bảo quản, chất ổn định,... Các tá dược phải đảm bảo không ảnh hưởng tới chức năng hoặc gây tổn thương, kích ứng niêm mạc đường hô hấp.

Phân loại

Theo trạng thái: Thuốc hít có thể dưới dạng lỏng hoặc rắn.

Dạng lỏng như dung dịch tinh dầu dễ bay hơi hoặc dung dịch thuốc đóng trong bao bì chai, lọ được nạp khí để đẩy thuốc qua van kiểu khí dung hoặc dùng thuốc với dụng cụ thích hợp.

Dạng rắn là các bột để hít thường đóng dạng khí dung ở áp suất cao hoặc hít bởi các dụng cụ chuyên khoa mũi họng hoặc dạng khối rắn của hoạt chất dễ bay hơi, thăng hoa trong ống hít.

Theo dạng bào chế: Ở dạng bào chế hoàn chỉnh có thuốc khí dung để hít và ống hít.

Thuốc khí dung để hít: Dạng thuốc đóng gói dưới áp suất cao dùng qua đường hô hấp bằng cách hít vào miệng hoặc mũi. Hoạt chất trong thuốc có thể ở dạng dung dịch, hỗn dịch, hoặc nhũ tương. Nếu thuốc ở dạng hỗn dịch hoặc nhũ tương, cần lắc đều trước khi dùng. Thuốc có thể đóng gói với van phân liều hoặc không phân liều.

Tùy theo yêu cầu trị liệu mà hạt khí dung có độ mịn phù hợp. Riêng khí dung dùng để điều trị bệnh phổi có các hoạt chất kháng sinh, kháng viêm,... kích thước hạt phải nhỏ hơn 5 μm . Mặt khác, áp lực khí đẩy phải đảm bảo đưa thuốc tới được vị trí thuốc cần tác dụng, đồng thời phù hợp với đặc điểm sinh lý đường hô hấp và an toàn cho người sử dụng..

Thuốc ống hít: Dùng cho các hoạt chất dễ bay hơi, hay thăng hoa thành khí: Tinh dầu bạc hà, camphor, menthol, eucalytol, v.v... hoặc hoạt chất được hòa tan, phân tán đều trong tá dược dầu sáp, dung môi và trộn hoặc thấm vào các vật liệu thích hợp tạo thành khối xốp, đặt trong ống để hít.

Cấu tạo của ống hít gồm: Phần thân ống có đáy kín, chứa khối thuốc xốp và phía trên để rộng chứa thuốc ở trạng thái khí. Phần đầu trên của ống có hình dạng thích hợp và đục lỗ để hít qua mũi. Nắp bảo vệ để thuốc không thoát ra khỏi ống khi bảo quản.

Bảo quản: cần bảo quản ống hít nơi khô, mát, tránh ánh sáng.

Các thuốc khác để xông hít:

Hộp chứa bột thuốc để hít: Hộp có ngăn chứa một liều thuốc ở dạng bột mịn và nối với một đầu để hít vào miệng. Hộp mang nhiều ngăn và có thể xoay các ngăn luân phiên cho mỗi lần sử dụng.

Nang thuốc để hít: Thuốc được cấp kèm theo một dụng cụ có bộ phận nghiền thuốc thành bột mịn để hít.

Dung dịch thuốc để xông hít: Thuốc được cấp để hít trên một máy hoặc dụng cụ phân tán thuốc thành thể hạt mịn trong khí để xông hít. Máy tạo hạt để hít từ dung dịch thuốc bằng rung động siêu âm hoặc kiểu máy nén khí qua đầu phun thuốc; máy xông hơi nước dùng nhiệt độ,... Ngoài ra, dụng cụ gây mê hồi sức cũng áp dụng kiểu trị liệu tương tự như thuốc hít.

Phương pháp sản xuất

Các dạng thuốc để xông hít nhất là thuốc hít theo đường hô hấp phải chọn lựa tá dược để phù hợp không gây kích ứng niêm mạc hô hấp, không gây nguy hiểm cho bệnh nhân. Các thuốc lỏng phải chọn pH trong khoảng 3,0 đến 8,5 vừa phù hợp sinh lý vừa giúp ổn định hoạt chất. Thuốc có chứa chất sát trùng bảo quản phải chứng tỏ hiệu lực ổn định theo quy định.

Đồ đựng của thuốc hít phải được lựa chọn theo quy định chung.

Tiêu chuẩn chất lượng

Đạt yêu cầu chất lượng theo các chuyên luận riêng.

Khí dung để hít đóng gói dưới áp suất khí đẩy phải đáp ứng các yêu cầu chung của thuốc khí dung, theo Phụ lục 1.18.

Các thuốc nếu bào chế để dùng kèm theo các y cụ để xông hít thuốc phải đáp ứng các quy định hiện hành về thuốc xông hít của ngành dược. Các y cụ để xông hít thuốc phải đáp ứng các quy định chung hiện hành về trang thiết bị y tế.

Nhãn thuốc

Thuốc hít phải dán nhãn theo quy định chung.

Nhãn có các nội dung về liều lượng nếu ở dạng khí dung và các quy định khác theo từng chuyên luận riêng.

1.18 THUỐC KHÍ DUNG

Aerosol

Thuốc khí dung là dạng bào chế mà trong quá trình sử dụng, hoạt chất được phân tán thành những hạt nhỏ trong không khí do thuốc được nén qua đầu phun bởi một luồng khí đẩy ở áp suất cao để tới vị trí tác dụng.

Thuốc khí dung có thể dùng ngoài da, tóc, mũi - họng, răng miệng hoặc tai,... và hay dùng để hít theo đường hô hấp có tác dụng tại chỗ hoặc tác dụng toàn thân.

Các dạng thuốc khí dung

Thuốc khí dung hoàn chỉnh: Dạng thuốc này là một hệ thống gồm: Thuốc, chai, lọ kín chứa thuốc có gắn đầu phun cùng với van và khí đẩy được nén ở áp suất thích hợp. Khi nhấn đầu phun, thuốc sẽ tự động đẩy ra khỏi đầu van. Van có thể là loại không phân liều, nhưng nếu cần thiết thuốc phải gắn van phân liều chính xác.

Thuốc khí dung khi đóng trong đồ đựng thường ở thể lỏng như: Dung dịch, hỗn dịch, nhũ tương. Đồ đựng thuốc có thể là chai, lọ hoặc bình được chế tạo đặc biệt để có thể gắn kết với các bộ phận gồm ống dẫn thuốc, van, đầu phun và nắp đậy. Đồ đựng thuốc được chế bằng vật liệu thích hợp như thủy tinh, nhựa, kim loại hoặc phối hợp. Khí đẩy có chức năng nén thuốc qua đầu phun và lượng khí nén đóng trong thuốc khí dung phải đảm bảo đủ để đẩy hết liều lượng thuốc theo chỉ định. Khí đẩy thường dùng là hỗn hợp các loại khí như khí tro carbonic, nitơ hoặc khí hydrocarbon và dẫn chất halogen của hydrocarbon. Hai nhóm sau thường dùng ở dạng khí nén hóa lỏng.

Thuốc khí dung hoàn chỉnh được sản xuất công nghiệp, tuy nhiên, kiểu đóng thuốc dưới áp lực cao của khí đẩy còn gặp ở một số chế phẩm không phải là thuốc khí dung như thuốc bột, thuốc lỏng để xoa da hoặc sirô thuốc và mỹ phẩm...

Thuốc khí dung kiểu piston: Thuốc này không nén sẵn khí đẩy như thuốc khí dung hoàn chỉnh, mà gắn van

kiểu piston để người dùng tự bơm nén không khí để đẩy thuốc. Khi nhấn, piston hoạt động như van một chiều chỉ cho khí đi vào, sau vài lần ấn áp suất đạt tới mức nhất định, van mở cho thuốc phun ra. Tiếp tục nhấn piston, chu kỳ phun thuốc được lặp lại. Đây là một dạng thuốc khí dung chưa hoàn chỉnh.

Thuốc khí dung dùng quả bóp: Thuốc đựng trong đồ đựng riêng, khí dùng thuốc được cho vào một đầu phun có gắn quả bóp (bằng nhựa hoặc cao su). Khi bóp, không khí sẽ nén với áp lực đủ để đẩy thuốc ra khỏi đầu phun. Đầu phun có hình dạng khác nhau, tùy trường hợp cho thuốc qua miệng hoặc mũi...

Đầu phun này là dụng cụ tạo khí dung cho cá nhân hay được dùng trong bệnh viện bằng cách nối chung với máy nén khí trị liệu khí dung.

Ngoài các dạng bào chế trên, còn có thể dùng dụng cụ, thiết bị khác như máy rung động siêu âm, máy dùng điện thế tạo ra thuốc khí dung để xông hít.

Kỹ thuật và điều kiện sản xuất

Kỹ thuật sản xuất thuốc khí dung phải đảm bảo cho hoạt chất ổn định trong thời hạn bảo quản. Các hoạt chất kém ổn định: Oxytetracyclin, hydrocortison, streptomycin, rifampicin,... phải sản xuất ở trạng thái khí dung khô, trong thành phần của thuốc không được chứa nước. Nếu hoạt chất ổn định với dung môi nước thì có thể bào chế thuốc ở thể dung dịch nhũ tương hoặc hỗn dịch.

Kích thước của các hạt mang hoạt chất trong thuốc khí dung phải đủ mịn và phân tán đều khi được đẩy ra khỏi đầu phun. Với khí dung trị bệnh phổi thường có hoạt chất kháng sinh, kháng viêm,... và kích thước hạt phải nhỏ hơn 5 μm . Mặt khác, áp lực khí đẩy của chế phẩm phải đảm bảo đưa thuốc tới được bề mặt vị trí thuốc cần tác dụng, đồng thời phù hợp với đặc điểm sinh lý đường hô hấp và an toàn cho người sử dụng.

Thuốc khí dung phải được sản xuất trong điều kiện đảm bảo chất lượng chung và phù hợp với đường sử dụng thuốc; phải kiểm tra giới hạn vi sinh vật. Thuốc sử dụng cho vết thương phải vô khuẩn (Phụ lục 13.6 Thử giới hạn nhiễm khuẩn và Phụ lục 13.7 Thử vô khuẩn). Chất liệu của đồ đựng thuốc phải lựa chọn đúng quy định.

Tiêu chuẩn chất lượng của thuốc thành phẩm

Đạt yêu cầu chất lượng theo các chuyên luận riêng.

Tiêu chuẩn áp dụng cho thuốc khí dung hoàn chỉnh gồm: Áp suất khí nén, cỡ hạt và phân bố cỡ hạt khi phun thuốc, khả năng phân liều của van, tốc độ phun.

Đặc tính an toàn: Điểm bắt lửa của thuốc khí phun, khả năng chịu áp lực của bình, độ kín của bao bì.

Nếu dung môi dùng trong khí dung có chứa ethanol thì phải xây dựng tiêu chuẩn và phương pháp định lượng hàm lượng ethanol trong thuốc.

Thuốc thành phẩm phải đáp ứng các tiêu chuẩn chung về: Nồng độ, hàm lượng hoạt chất,...

Ghi nhãn theo quy định và có tên các chất khí đẩy, các chất phụ.

Đồ đựng

Đồ đựng thuốc khí dung cần có độ bền vững không ảnh hưởng tới hoạt chất và các thành phần của thuốc, đồng thời phải an toàn cho sản xuất và sử dụng. Phải chịu được áp lực cao của khí đẩy. Vật liệu có thể bằng thủy tinh, kim loại, nhựa hoặc phối hợp các vật liệu này.

Đồ đựng bằng thủy tinh: Nên dùng loại trung tính và có thể được bọc nhựa dẻo ở mặt ngoài.

Đồ đựng bằng kim loại: Phải dùng loại không rỉ như nhôm, thiếc và có thể tráng các lớp vecni bảo vệ bề mặt trong của bình hay chai lọ nhất là bình bằng nhôm.

Đồ đựng bằng nhựa dẻo: Như polyethylen PE, polypropylen PP,...

Đồ đựng thuốc trước khi đưa vào quy trình sản xuất cần phải xử lý theo qui định. Riêng mặt trong của đồ đựng phải kiểm soát để giảm thiểu bụi, vi sinh vật theo yêu cầu và không chứa tạp chất bôi trơn khuôn đúc đồ đựng hoặc từ chất tẩy rửa.

Van và ống dẫn thuốc

Van giữ cho bình kín dưới áp suất cao và phun thuốc với lượng quy định. Có 2 loại van: Không phân liều và phân liều.

Van không phân liều: Van cho thuốc phun liên tục khi nhấn lên van. Thuốc sẽ phun những lượng phụ thuộc vào thời gian nhấn van, thường vài giây, song có thể kéo dài hơn nếu cần.

Van phân liều: Van chỉ phun những liều thuốc chính xác, không phun liên tục, mà theo từng liều. Liều thuốc thường tính theo thể tích thuốc lỏng tương đương với lượng hoạt chất đáp ứng yêu cầu trị liệu. Các van có thể được chế tạo để phun thuốc theo thể thẳng đứng hoặc dốc ngược bao bì để hít thuốc qua mũi hay miệng.

Ống nhúng: Là một ống nhỏ nhúng trong thuốc và nối với van. Ống nhúng có chiều dài phù hợp với chiều cao của bao bì và trạng thái tập hợp của thuốc. Đường kính trong của ống nhúng phải phù hợp với kích thước hạt và độ nhớt của thuốc. Ống nhúng và thân van thường xuyên tiếp xúc với thuốc nên ngoài đặc tính bền hóa lý, không độc, còn phải có bề mặt trong nhẵn, trơn, không bị đọng thuốc, nghẹt thuốc trong sử dụng. Nhựa polyethylen PE, polypropylen PP và nylon hay được dùng.

Đầu phun, nút bấm và nắp bảo vệ

Đầu phun là một ống dẫn thuốc có lỗ nhỏ với cấu tạo đặc biệt, gắn liền với van để đưa thuốc ra khỏi van. Đầu phun thuốc có thể theo thể thẳng đứng hay nằm ngang và có hình dạng, kích cỡ phù hợp với cơ quan đưa thuốc tới như miệng, mũi, tai, để hít hoặc dùng ngoài da.

Nút bấm là bộ phận gắn liền trong hệ thống van - đầu phun, khi ấn hay di chuyển vị trí sẽ đẩy van về vị trí mở cho thuốc phát ra khỏi đầu phun. Đầu phun và nút bấm thường được chế tạo liền một khối để dễ sử dụng, nhưng đầu phun cũng có thể tháo rời, khi dùng mới lắp.

Nắp bảo vệ có chức năng bảo vệ giữ đầu phun khỏi biến dạng và luôn sạch trong sử dụng.

Độ bền và độ an toàn sinh học của đồ đựng

Đồ đựng thuốc cần có độ bền vững không ảnh hưởng tới hoạt chất, đặc biệt không giải phóng những thành phần độc hại khi thuốc tiếp xúc với da, niêm mạc đường hô hấp. Các bộ phận của đồ đựng tiếp xúc trực tiếp với thuốc như: Chai, lọ hoặc ống dẫn thuốc, van bằng nhựa, vòng đệm bằng cao su hoặc bao bì có lớp tráng bảo vệ bên trong cần phải chọn lựa kỹ và có thử nghiệm đánh giá độ bền và độ an toàn sinh học. Các chất nhả ra từ cao su lưu hóa hoặc nhựa như các chất đa nhân thơm, nitrosamin, chất chống oxy hóa, các monome dẫn chất từ nhựa dẻo.

Vật liệu chế tạo đồ đựng có bộ phận tiếp xúc trực tiếp với thuốc cần đạt giới hạn các chất trên thông qua những thử nghiệm hóa học thích hợp.

Van và ống dẫn thuốc bằng nhựa phải có đánh giá về an toàn sinh học, tương tự bao bì nhựa đựng thuốc tiêm (Phụ lục 17.3.2. Đồ đựng và nút bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm thuốc tiêm).

Khí đẩy

Chức năng: Khí đẩy là thành phần đặc trưng trong thuốc khí dung, chúng có có chức năng ép đẩy thuốc và tạo hệ phân tán mịn của thuốc qua đầu phun. Nhưng nhiều trường hợp khí đẩy còn tham gia với vai trò như là dung môi hòa tan hoạt chất, tham gia vào hệ phân tán trong bào chế để hình thành hệ nhũ tương trong khí dung bột, như nhóm khí hóa lỏng. Khí đẩy có thể đóng sẵn nhưng cũng có thể nén vào khi dùng thuốc. Trong loại khí dung đóng sẵn khí đẩy, lượng khí đẩy được nén vào đồ đựng thuốc tương ứng với trạng thái áp suất dư, sao cho đảm bảo đẩy hết lượng thuốc đóng gói. Đa số thuốc khí dung đóng sẵn khí đẩy có áp suất ở khoảng 2 kg/cm² đến 7 kg/cm².

Các loại khí đẩy: Khí đẩy có thể ở trạng thái khí hoặc trạng thái lỏng (khí hóa lỏng). Khí đẩy dùng đơn giản nhất là không khí như trong trường hợp khí dung kiểu piston hoặc loại tương ứng, khi dùng khí mới được bơm vào theo chỉ dẫn. Với trường hợp khí đẩy đóng sẵn thường dùng hỗn hợp các loại khí như khí trơ, hidro carbon và dẫn chất. Nhóm khí trơ: Khí carbonic (CO₂), nitơ (N₂), nitơ oxyd (N₂O). Nhóm khí hóa lỏng: Hydrocarbon và dẫn chất halogenocarbon thường là dẫn chất của butan, pentan. Khí được chọn phải an toàn, phù hợp với thành phần của thuốc và phối hợp ở tỷ lệ thích hợp để đạt được đặc tính về áp suất hơi nén.

Phương pháp sản xuất

Tùy vào kiểu thuốc khí dung hoàn chỉnh hay không hoặc là thiết bị, dụng cụ cung cấp khí dung mà có phương pháp chế tạo phù hợp. Sau đây chỉ nêu phương pháp sản xuất thuốc khí dung hoàn chỉnh chứa khí đẩy ở áp suất cao. Ở dạng thuốc này có thể tiến hành theo 1 trong 2 quy trình: Quy trình tiến hành ở nhiệt độ thường, nén khí đẩy ở áp suất cao và quy trình tiến hành ở nhiệt độ lạnh.

Quy trình tiến hành ở nhiệt độ thường, nén khí đẩy ở áp suất cao: Áp dụng được cho cả hai trạng thái của khí đẩy: Dạng khí hoặc khí hóa lỏng. Các công đoạn của quy trình này gồm: Chuẩn bị nguyên phụ liệu và chuẩn bị bao bì để đựng thuốc. Pha chế thuốc và đóng thuốc vào bao bì sạch. Đặt van và phụ tùng, gắn chặt chúng với bao bì cho kín. Đóng khí đẩy đến áp suất ấn định. Dán nhãn. Nhập kho, bảo quản chế phẩm.

Quy trình tiến hành ở nhiệt độ lạnh: Dùng riêng cho khí hóa lỏng. Tiến hành pha chế thuốc ở nhiệt độ thích hợp nhưng công đoạn đóng khí đẩy phải tiến hành ở nhiệt độ thấp, thường dưới 0 °C. Các công đoạn của quy trình này gồm: Chuẩn bị nguyên phụ liệu và chuẩn bị bao bì để đựng thuốc. Pha chế thuốc và đóng thuốc vào bao bì sạch. Đóng khí đẩy với lượng thích hợp theo phương pháp cân. Đặt van và phụ tùng, gắn chặt chúng với bao bì cho kín. Dán nhãn. Nhập kho, bảo quản chế phẩm.

Quá trình pha chế, sản xuất thuốc khí dung cần phải kiểm soát các thông số như khối lượng thuốc, lượng khí đẩy và áp suất, khả năng hoạt động của van, độ kín của bao bì,...

Nhãn thuốc

Thuốc khí dung thành phẩm phải được dán nhãn có nội dung phù hợp với quy chế chung. Ngoài ra, nhãn cần có những lưu ý, cảnh báo riêng biệt cần thiết cho người sử dụng ở từng loại thuốc khí dung, chẳng hạn: Thuốc khí dung không được phun trực tiếp vào mắt hoặc niêm mạc.

Thuốc khí dung dùng riêng để hít, khi hít phải thận trọng, phải thực hiện theo những chỉ dẫn của đơn thuốc hoặc hướng dẫn của thầy thuốc. Không nên tự dùng thuốc khí dung để hít nếu không được chỉ định vì có thể ngạt thở hoặc nguy hiểm đến tính mạng.

Thuốc khí dung là chế phẩm đóng gói khí nén ở áp suất cao. Tuyệt đối không để những loại thuốc này gần lửa hoặc để ở nơi nhiệt độ cao từ 50 °C trở lên. Không đốt, không đè nén, không chọc vật nhọn vào thuốc.

Phải để thuốc khí dung xa tầm tay trẻ em.

Việc sản xuất các thuốc khí dung có sử dụng khí đẩy là các hydrocarbon hoặc dẫn chất halogenohydrocarbon, phải tuân thủ các quy định hiện hành.

1.19 THUỐC TIÊM, THUỐC TIÊM TRUYỀN***Injectiones, infusiones*****Định nghĩa**

Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền là những chế phẩm thuốc vô khuẩn dùng để tiêm hoặc tiêm truyền vào cơ thể.

Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền được phân thành 3 loại:

- Thuốc tiêm (dung dịch, hỗn dịch hay nhũ tương).
- Thuốc tiêm truyền (dung dịch nước hay nhũ tương dầu trong nước).
- Bột pha tiêm hoặc dung dịch đậm đặc để pha thuốc tiêm hay thuốc tiêm truyền.

A. Quy định chung**Yêu cầu về pha chế thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền**

Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền được pha chế - sản xuất bằng cách hòa tan, phân tán hoặc nhũ hóa dược chất và các tá dược vào một dung môi hay hỗn hợp dung môi thích hợp, trong điều kiện tuân thủ đầy đủ các yêu cầu về pha chế - sản xuất các chế phẩm thuốc vô khuẩn, để tránh nhiễm tạp và nhiễm vi sinh vật vào thuốc. Các thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền phải được tiệt khuẩn theo phương pháp quy định (Phụ lục 16.1). Trường hợp vô khuẩn bằng cách lọc thì phải sử dụng dụng cụ, thiết bị, đồ đựng đã tiệt khuẩn và pha chế trong điều kiện tuyệt đối vô khuẩn.

Quá trình pha chế một mẻ thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền từ khi pha thuốc, đóng thuốc, hàn kín và tiệt khuẩn cần hoàn thành càng nhanh càng tốt, thường trong vòng 12 giờ. Nếu không, phải bảo quản thuốc trong điều kiện vô khuẩn.

Thành phần

Dược chất phải là loại nguyên liệu dùng để pha thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền.

Dung môi thường dùng pha thuốc tiêm là nước cất để pha thuốc tiêm, dung môi hòa tan với nước (ethanol, propylen glycol,...), dầu thực vật trung tính hoặc các dung môi thích hợp khác. Dung môi dùng trong thuốc tiêm phải đảm bảo an toàn và không ảnh hưởng đến hiệu lực điều trị ở thể tích tiêm.

Các tá dược: Tùy theo bản chất của hoạt chất, trong thành phần thuốc tiêm có thể thêm các chất để tăng cường, điều chỉnh pH, tăng độ tan, độ ổn định của hoạt chất, gây thẩm, nhũ hóa, ... nhưng phải đảm bảo an toàn và không ảnh hưởng đến hiệu lực điều trị của thuốc ở nồng độ sử dụng trong chế phẩm.

Thuốc tiêm đóng nhiều liều trong một đơn vị đóng gói, thuốc tiêm không được tiệt khuẩn bằng nhiệt, sau khi đóng ống (lọ) phải cho thêm chất sát khuẩn với nồng độ thích hợp, trừ khi bản thân chế phẩm có đủ tính sát khuẩn cần thiết.

Không được cho chất sát khuẩn vào thuốc tiêm với liều trên 15 ml, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Không được cho chất sát khuẩn vào thuốc tiêm để tiêm vào nội sọ, màng cứng, dịch não tủy hoặc các tổ chức ở mắt, trừ khi có chỉ dẫn riêng.

Không được cho chất màu vào thuốc tiêm với mục đích nhuộm màu chế phẩm.

Khi dược chất trong thuốc tiêm dễ bị oxy hóa có thể cho thêm các chất chống oxy hóa thích hợp và /hoặc đóng thuốc dưới dòng khí nitơ hoặc khí trơ thích hợp.

Đồ đựng

Đồ đựng thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền (chai, lọ, ống, túi...) được làm từ các nguyên liệu trong suốt, cho phép kiểm tra được bằng mắt thuốc chứa bên trong. Đồ đựng không được tương tác về vật lý hay hóa học với thuốc chứa trong nó. Đồ đựng thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền phải đạt các chỉ tiêu chất lượng quy định trong các Phụ lục 17.1, mục 17.3.2.

Nút chai lọ thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền phải đạt các chỉ tiêu quy định trong Phụ lục 17.5.

Đồ đựng và nút chai lọ thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền phải được xử lý theo những quy trình thích hợp, đảm bảo sạch và vô khuẩn mới được dùng để đóng thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền.

Ghi nhãn

Nhãn thuốc tiêm phải ghi theo quy chế.

Nhãn không che kín đồ đựng để có thể kiểm tra được thuốc ở bên trong.

Nhãn thuốc cần có tên chế phẩm, nồng độ dược chất hoặc lượng dược chất trong một thể tích xác định đối với thuốc tiêm lỏng, hoặc lượng dược chất đối với thuốc tiêm bột.

Đối với bột pha tiêm và dung dịch đậm đặc để pha thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền thì phải ghi rõ loại dung môi và lượng dung môi dùng để pha thuốc trước khi sử dụng, điều kiện bảo quản và thời gian sử dụng sau khi pha. Nếu có ống dung môi kèm theo thì trên ống phải có nhãn ghi rõ thành phần và thể tích dung môi.

B. Các loại thuốc tiêm, tiêm truyền**THUỐC TIÊM****Định nghĩa**

Thuốc tiêm là các dung dịch, hỗn dịch hoặc nhũ tương vô khuẩn, để tiêm vào cơ thể bằng các đường tiêm khác nhau.

Yêu cầu chất lượng**Cảm quan**

Màu sắc: Không màu hoặc có màu của hoạt chất (theo chuyên luận riêng).

Trạng thái phân tán: Thuốc tiêm hỗn dịch có thể lắng cặn nhưng phải dễ dàng phân tán đồng nhất khi lắc và phải giữ được sự đồng nhất trong thời gian đủ để lấy đúng liều thuốc. Kích thước của phần lớn (trên 90 %) các tiểu phân hoạt chất phải dưới 15 µm, không quá 10 % số tiểu phân kích thước 15 µm đến 20 µm và hầu như không có tiểu phân kích thước 20 µm đến 50 µm.

Thuốc tiêm nhũ tương phải không có bất kỳ biểu hiện nào của sự tách lớp.

Độ trong: Thuốc tiêm dạng dung dịch phải trong suốt và không có các tiểu phân không tan khi kiểm tra bằng mắt thường ở điều kiện quy định (Phụ lục 11.8, mục B).

Thể tích

Nếu không có chỉ dẫn khác, thuốc tiêm đơn liều phải đáp ứng phép thử sau:

Thuốc tiêm có thể tích không lớn hơn 5 ml đáp ứng yêu cầu của phương pháp 1.

Thuốc tiêm có thể tích lớn hơn 5 ml đáp ứng yêu cầu của phương pháp 2.

Thuốc tiêm đem đo thể tích phải để cân bằng với nhiệt độ phòng và phải được phân tán đồng nhất.

Phương pháp 1

Lấy 6 ống (1 ống để tráng bơm tiêm, 5 ống để thử).

Kiểm tra bằng cảm quan 5 ống để thử phải có thể tích thuốc gần bằng nhau.

Dùng bơm tiêm khô, sạch, có dung tích không lớn hơn 2,5 lần so với thể tích cần đo, có gắn kim tiêm thích hợp. Lấy thuốc vào bơm tiêm sao cho thuốc trong bơm tiêm không có bọt khí và trong kim tiêm chứa đầy thuốc tiêm. Lần lượt lấy hết thuốc trong từng ống. Kết quả thể tích của mỗi ống phải từ 100 % đến 115 % của thể tích ghi trên nhãn.

Phương pháp 2

Lấy 4 ống (1 ống để tráng bơm tiêm, 3 ống để thử).

Cách thử theo quy định như phương pháp 1.

Kết quả thể tích của mỗi ống phải từ 100 % đến 110 % của thể tích ghi trên nhãn.

Thể tích của thuốc tiêm đóng nhiều liều phải đáp ứng yêu cầu của Phụ lục 11.1.

Thử vô khuẩn

Phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Phép thử nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2) thực hiện trong những trường hợp có quy định trong chuyên luận. Khi chuyên luận có quy định thử nội độc tố vi khuẩn thì không phải thử chất gây sốt, nếu không có chỉ dẫn khác.

Chất gây sốt

Không được có (Phụ lục 13.4).

Phép thử chất gây sốt thực hiện trong những trường hợp sau:

Với các thuốc tiêm đóng liều đơn có thể tích 15 ml hoặc hơn và không có quy định thử nội độc tố, trừ những chỉ dẫn khác.

Với thuốc tiêm đóng liều đơn có thể tích nhỏ hơn 15 ml nếu trên nhãn có ghi "không có chất gây sốt" và không có quy định thử nội độc tố.

Độ đồng đều hàm lượng

Áp dụng đối với thuốc tiêm hỗn dịch đóng liều đơn có hàm lượng hoạt chất nhỏ hơn 2 mg hoặc nhỏ hơn 2 %

so với khối lượng thuốc thì phải đáp ứng yêu cầu về độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2), trừ khi có chỉ dẫn riêng. Nếu chế phẩm có nhiều thành phần hoạt chất, yêu cầu này chỉ áp dụng cho thành phần hoạt chất nhỏ hơn 2 mg hoặc nhỏ hơn 2 % so với khối lượng thuốc. Yêu cầu này không áp dụng với thuốc tiêm chứa các vitamin và nguyên tố vi lượng.

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo quy định trong chuyên luận riêng.

THUỐC TIÊM TRUYỀN

Định nghĩa

Thuốc tiêm truyền là dung dịch nước hoặc nhũ tương dầu trong nước vô khuẩn, không có chất gây sốt, không có nội độc tố vi khuẩn, không chứa chất sát khuẩn, thường đẳng trương với máu, dùng để tiêm truyền tĩnh mạch với thể tích lớn và tốc độ chậm.

Yêu cầu chất lượng

Thuốc tiêm truyền phải đạt các yêu cầu chất lượng đối với thuốc tiêm và các yêu cầu sau đây:

Độ trong

Các dung dịch tiêm truyền phải đạt quy định về độ trong của thuốc tiêm khi kiểm tra bằng mắt thường (Phụ lục 11.8, mục B) và phải đáp ứng các yêu cầu về số lượng và giới hạn kích thước các tiểu phân không quan sát được bằng mắt thường (Phụ lục 11.8, mục A).

Các nhũ tương tiêm truyền không được có dấu hiệu của sự tách lớp. Đường kính của phần lớn (80 %) các giọt phân tán phải nhỏ hơn 1 μm và không có giọt có đường kính lớn hơn 5 μm , trừ khi có chỉ dẫn riêng.

Thể tích

Đáp ứng yêu cầu của Phụ lục 11.1.

Chất gây sốt

Không được có (Phụ lục 13.4). Chỉ không phải thử chất gây sốt nếu đã có quy định thử nội độc tố vi khuẩn, trừ những chỉ dẫn khác.

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo quy định trong chuyên luận riêng.

BỘT PHA TIÊM HOẶC DUNG DỊCH ĐẶM ĐẶC ĐỂ PHA THUỐC TIÊM HAY THUỐC TIÊM TRUYỀN

Định nghĩa

Bột pha tiêm hay bột để pha thuốc tiêm (bao gồm cả các chế phẩm đông khô) hoặc dung dịch đậm đặc để pha thuốc tiêm hay thuốc tiêm truyền là những chế phẩm vô khuẩn, phải pha với một thể tích quy định của một chất lỏng vô khuẩn thích hợp ngay trước khi dùng. Sau khi pha, chúng phải tuân theo các yêu cầu chất lượng đối với thuốc tiêm hoặc thuốc tiêm truyền và yêu cầu dưới đây:

Yêu cầu chất lượng**Độ đồng đều khối lượng**

Bột để pha thuốc tiêm hay thuốc tiêm truyền phải thử độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.3). Yêu cầu này không áp dụng với các chế phẩm đã thử độ đồng đều về hàm lượng.

Độ đồng đều hàm lượng

Bột để pha thuốc tiêm hay thuốc tiêm truyền có hàm lượng được chất nhỏ hơn 2 mg hoặc nhỏ hơn 2 % so với khối lượng thuốc hoặc có khối lượng thuốc bằng hay nhỏ hơn 40 mg thì phải đáp ứng yêu cầu độ đồng đều về hàm lượng (Phụ lục 11.2), trừ khi có chỉ dẫn riêng.

Chất gây sốt - nội độc tố vi khuẩn

Sau khi pha, thuốc phải đáp ứng yêu cầu đối với thuốc tiêm hoặc thuốc tiêm truyền.

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo quy định trong chuyên luận riêng.

1.20 THUỐC VIÊN NÉN**Tabellae****Định nghĩa**

Viên nén là dạng thuốc rắn, mỗi viên là một đơn vị phân liều, dùng để uống, nhai, ngậm, đặt hoặc hòa với nước để uống, để súc miệng, để rửa.... Viên nén chứa một hoặc nhiều dược chất, có thể thêm các tá dược độn, tá dược rã, tá dược dính, tá dược trơn, tá dược bao, tá dược màu... được nén thành khối hình trụ dẹt; thuôn (caplet) hoặc các hình dạng khác. Viên có thể được bao.

Yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén**Tính chất**

Viên rắn, hai mặt nhẵn, trên mặt có thể có rãnh, chữ hoặc ký hiệu, cạnh và thành viên lành lặn. Viên không bị gãy vỡ, vỡ vụn trong quá trình bảo quản, phân phối và vận chuyển.

Độ rã

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, viên nén phải đạt yêu cầu về độ rã qui định trong (Phụ lục 11.6) Phép thử độ rã của viên nén và viên nang.

Viên nén và viên bao đã thử độ hòa tan thì không phải thử độ rã.

Độ đồng đều khối lượng

Thử theo Phụ lục 11.3 Phép thử độ đồng đều khối lượng. Viên nén và viên bao đã thử độ đồng đều về hàm lượng với tất cả các dược chất có trong thành phần thì không phải thử độ đồng đều khối lượng.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Nếu không có chỉ dẫn khác, viên nén có hàm lượng hoạt chất dưới 2 mg hoặc dưới 2 % (kl/kl) phải thử độ

đồng đều hàm lượng. Đối với viên nén có từ 2 dược chất trở lên, chỉ áp dụng yêu cầu này với thành phần có hàm lượng nhỏ như qui định ở trên.

Độ hòa tan

Yêu cầu được chỉ ra trong chuyên luận riêng. Phương pháp thử được ghi trong chuyên luận Phép thử độ hòa tan của viên nén và viên nang, Phụ lục 11.4.

Định lượng và các yêu cầu kỹ thuật khác

Thử theo qui định trong chuyên luận riêng.

Bảo quản - ghi nhãn

Thuốc viên nén phải đựng trong bao bì kín, chống ẩm và chống va chạm cơ học.

Ghi nhãn theo qui định. Nếu là viên bao cần phải ghi rõ: Bao đường, bao phim hay bao tan trong ruột.

Viên nén không bao

Viên nén không bao gồm các loại viên điều chế bằng cách nén các hạt nhỏ của một dược chất hoặc nhiều dược chất thành viên nén một lớp hoặc viên nén nhiều lớp. Các tá dược cho thêm vào viên không được làm thay đổi hoặc hạn chế việc giải phóng dược chất trong dịch tiêu hóa.

Độ rã

Viên nén không bao phải đáp ứng yêu cầu về độ rã qui định trong chuyên luận Phép thử độ rã của viên nén và viên nang (Phụ lục 11.6). Dùng nước làm môi trường thử, cho đĩa vào mỗi ống thử, thời gian rã không được quá 15 phút, nếu không có chỉ dẫn khác.

Nếu viên không đáp ứng được yêu cầu do viên bị dính vào đĩa thì thử lại với 6 viên khác, nhưng không cho đĩa vào ống. Chế phẩm đạt yêu cầu nếu 6 viên đều rã hết.

Viên nhai không phải thử độ rã.

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên sủi bọt

Viên sủi bọt là viên nén không bao, thường chứa tá dược sủi bọt gồm các acid hữu cơ và muối carbonat hoặc hydrocarbonat, phản ứng khi có nước giải phóng khí carbon dioxyl. Viên được hòa tan hoặc phân tán trong nước trước khi dùng.

Độ rã

Cho một viên vào cốc chứa 200 ml nước ở 15°C đến 25°C, phải có nhiều bọt khí bay ra. Viên được coi là rã hết nếu hòa tan hoặc phân tán hết trong nước, không còn các hạt kết vón. Thử với 6 viên, chế phẩm đạt yêu cầu phép thử nếu mỗi viên rã trong vòng 5 phút, trừ khi có các chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên bao

Viên bao là viên nén được bao bằng một hay nhiều lớp của hỗn hợp các chất bao khác nhau như đường (bao đường), polymer (bao phim) và các tá dược khác: chất hóa dẻo, chống dính, chất màu,... Tá dược bao thường được điều chế dưới dạng dung dịch hay hỗn dịch trong dung môi hay dẫn chất thích hợp. Sau khi bao, dung môi phải được loại bỏ khỏi viên.

Tính chất

Viên bao có bề mặt nhẵn, có thể có màu, được đánh bóng. Khi bẻ viên có thể quan sát thấy lớp bao.

Độ rã (Phụ lục 11.6)

Viên bao phải đáp ứng yêu cầu về độ rã qui định trong chuyên luận Phép thử độ rã của viên nén và viên nang (Phụ lục 11.6). Dùng nước làm môi trường thử, cho đĩa vào mỗi ống thử. Nếu không có chỉ dẫn khác, viên bao phim phải rã trong 30 phút, viên bao khác phải rã trong 60 phút.

Nếu có viên nào không rã thì thử lại với 6 viên khác, thay nước bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)*. Chế phẩm đạt yêu cầu nếu 6 viên đều rã hết.

Nếu phép thử không đạt yêu cầu do viên bị dính vào đĩa thì thử lại với 6 viên khác không dùng đĩa. Chế phẩm đạt yêu cầu nếu cả 6 viên đều rã hết.

Viên nén nhai có bao không phải thử độ rã.

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên bao tan trong ruột

Viên bao tan trong ruột là viên nén không rã dưới tác dụng của dịch vị trong dạ dày, nhưng phải giải phóng dược chất trong ruột non. Viên được bào chế bằng cách bao viên, hạt, với một lớp bao không rã trong môi trường dịch vị.

Tính chất

Viên bao tan trong ruột phải đạt các tính chất chung của viên bao.

Độ hòa tan

Viên nén chứa các hạt, pellet bao tan trong ruột phải tiến hành thử độ hòa tan để kiểm tra sự giải phóng dược chất theo Phụ lục 11.4 Phép thử độ hòa tan của viên nén và nang và theo chuyên luận riêng.

Độ rã

Viên nén bao tan trong ruột phải đáp ứng yêu cầu về độ rã qui định trong chuyên luận Phép thử độ rã của viên bao tan trong ruột (Phụ lục 11.7).

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên ngậm

Viên ngậm thường là viên nén không bao được điều chế để được chất giải phóng tại khoang miệng gây tác dụng tại chỗ hay hấp thu qua niêm mạc dưới lưỡi.

Các yêu cầu kỹ thuật

Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên nén tan trong nước

Viên nén tan trong nước là viên nén không bao hòa tan trong nước. Dung dịch sau khi hòa tan phải trong suốt hoặc hơi đục nhẹ.

Độ rã

Viên nén phải rã trong vòng 3 phút, thử theo chuyên luận Phép thử độ rã của viên nén và viên nang (Phụ lục 11.6). Dùng nước ở 15 °C đến 25 °C, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên nén phân tán trong nước

Viên nén phân tán trong nước là viên nén không bao, phân tán đồng đều trong nước tạo thành hỗn dịch đồng nhất.

Độ rã

Theo yêu cầu của mục Viên nén tan trong nước.

Độ đồng đều phân tán

Cho 2 viên vào 100 ml nước, khuấy cho đến khi hoàn toàn phân tán. Độ phân tán đạt yêu cầu khi cho dung dịch phân tán chảy qua hết lỗ mắt rây 710 µm.

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên nén phân tán trong miệng

Viên nén phân tán trong miệng là viên nén không bao, khi đặt vào miệng phải phân tán nhanh trước khi nuốt.

Độ rã

Viên nén phải rã trong 3 phút, thử theo chuyên luận Phép thử độ rã của viên nén và viên nang (Phụ lục 11.6).

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên nén tác dụng kéo dài

Viên tác dụng kéo dài là viên nén không bao hay bao được bào chế với các tá dược hoặc bằng phương pháp đặc biệt hoặc cả hai, để được chất giải phóng kéo dài hoặc có kiểm soát hoặc theo chương trình.

Độ hòa tan

Phải thử độ hòa tan theo chuyên luận riêng để chứng minh sự giải phóng dược chất.

Các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

1.21 THUỐC BỘT Y TẾ**Musci medicati**

Thuốc bột là dạng thuốc lỏng đóng trong bao bì kín với khí đẩy ở áp suất cao thích hợp, trong đó có một lượng khí phân tán đều trong môi trường lỏng tạo bột, khi dùng bột tự vỡ do khí thoát đi còn lại thuốc ở dạng mềm dễ bám dính.

Thuốc bột y tế dùng để sát trùng da, niêm mạc, vết thương, trị bỏng,... hoặc vào việc thích hợp khác. Thuốc chứa một hoặc nhiều hoạt chất, thường gặp như menthol, tinh dầu tràm, clorocresol, hexetidin,... và các tá dược thích hợp như chất dẫn, chất sát trùng bảo quản, chất tạo nhũ, tạo bột và chất ổn định. Các tá dược phải đảm bảo không ảnh hưởng tới chức năng hoặc gây tổn thương, kích ứng nơi dùng thuốc,....

Thuốc bột được hình thành bởi sự phân tán khí trong môi trường lỏng chứa hoạt chất, tá dược và trạng thái bột phải hình thành ổn định. Thuốc được đóng trong chai, lọ chứa với khí đẩy và có phụ tùng như van, nút bấm để đẩy thuốc ra khỏi bao bì khi sử dụng.

Phương pháp sản xuất

Thuốc bột được bào chế dưới dạng nhũ tương, thường là nhũ tương Dầu trong Nước, trong đó hoạt chất được hòa tan vào một trong 2 pha tùy đặc tính thân nước hoặc thân dầu của chúng. Thuốc được đóng vào một bình chứa kiểu khí dung và đặt van, nút bấm phù hợp. Khí đẩy được nén vào bình với áp suất thích hợp, khí đẩy sẽ phân tán trong tương dầu của nhũ tương tạo ra bột ở áp lực cao trong bình kín.

Khí đẩy thường dùng là khí hóa lỏng hydrocarbon và dẫn chất.

Tiêu chuẩn chất lượng

Đạt yêu cầu chất lượng theo các chuyên luận riêng.

Thuốc bột y tế dạng đóng khí đẩy dưới áp suất cao phải đáp ứng các yêu cầu chung của thuốc khí dung (Phụ lục 1.18).

Nếu thuốc bột dùng trên vết thương, phải đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Tiêu chuẩn riêng cho thuốc bột gồm: Tỷ trọng của thuốc, khả năng tạo bột.

Xác định tỷ trọng tương đối của thuốc bột: Đặt chai (lọ) thuốc còn nguyên vẹn ở nhiệt độ 25 °C ít nhất trong 24 giờ. Lấy chai thuốc ra, cẩn thận không làm cho thuốc nóng lên, và gắn 1 ống cứng có đường kính trong 1 mm và chiều dài 70 mm đến 100 mm vào lỗ phun thuốc ở đầu bấm. Lắc chai để thuốc đồng nhất và bấm nút để bỏ lượng thuốc thoát ra ban đầu khoảng 5 ml đến 10 ml. Cân bì một đĩa đáy bằng có chiều cao khoảng 35 mm và dung tích khoảng 60 ml. Cho đầu ống chạm góc của đĩa và bấm cho thuốc chuyển vào đĩa, chuyển đầu ống xoay tròn trên khắp mặt đĩa cho bột thuốc phủ đều và cao hơn mặt đĩa. Dùng một

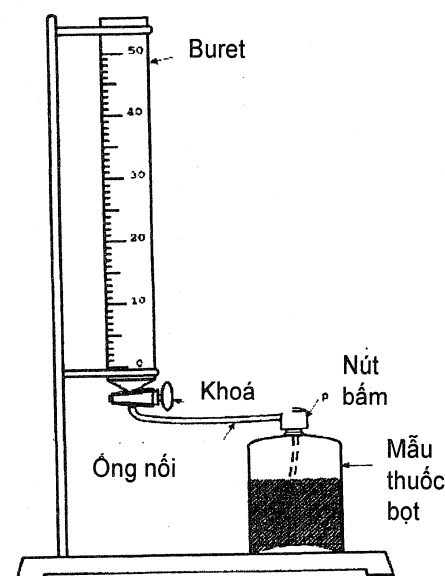
phiên mỏng gạt cho bột bằng phẳng và vừa đúng thể tích của đĩa. Cân khối lượng thuốc (m_t). Tiếp theo cho một thể tích nước cất (TT) tương tự. Cân khối lượng nước (m_n).

Tỷ trọng tương đối của thuốc = m_t / m_n

Tiến hành thí nghiệm 3 lần, lấy kết quả trung bình.

Kết quả mỗi lần thử không được lệch quá 20 % so với giá trị trung bình.

Khả năng tạo bột của thuốc: Chuẩn bị dụng cụ (xem hình) gồm: Một buret dung tích 50 ml, chia vạch đến khoảng 0,1 ml có đường kính trong 15 mm và khóa có lỗ thoát 4 mm. Gắn 1 ống dẫn bằng chất dẻo có đường kính trong 4 mm và chiều dài không quá 50 mm vào đầu ra của buret. Đặt chai (lọ) thuốc còn nguyên vẹn ở nhiệt độ 25 °C ít nhất trong 24 giờ. Lấy chai thuốc ra, cẩn thận không làm cho thuốc nóng lên. Lắc chai để thuốc đồng nhất và bấm nút để bỏ lượng thuốc thoát ra ban đầu khoảng 5 ml đến 10 ml. Gắn ống đã nối với buret vào lỗ phun thuốc ở đầu bấm. Bấm cho thuốc đi vào buret được 30 ml tính theo chiều cao của khối bột cho một lần thử nghiệm. Khóa buret, đồng thời bấm đồng hồ và đọc thể tích khối bột trên buret. Cứ mỗi 10 giây đọc và ghi nhận thể tích tăng thêm đến khi khối bột đạt thể tích cao nhất. Khi đọc, do bề mặt của khối bột không phẳng, nên có thể đọc vạch cao nhất và vạch thấp nhất, cộng lại chia trung bình.



Hình 1.21 - Dụng cụ xác định khả năng tạo bột của thuốc bột y tế

Tiến hành thí nghiệm 3 lần.

Kết quả: Không có lần nào cần quá 5 phút để đạt được thể tích cao nhất.

Nhãn thuốc

Thuốc bột y tế phải dán nhãn theo quy định chung.

1.22 RƯỢU THUỐC***Alcoholaturae*****Định nghĩa**

Rượu thuốc là dạng thuốc lỏng dùng để uống hay đôi khi dùng ngoài, được điều chế bằng cách ngâm dược liệu (thảo mộc hoặc động vật) trong rượu trắng hoặc ethanol loãng trong một thời gian nhất định (tùy theo quy định của từng công thức) rồi gạn hoặc lọc lấy dịch trong.

Rượu thuốc phải đáp ứng các yêu cầu sau đây:

Dược liệu: Dược chế biến và chuẩn bị theo yêu cầu của từng công thức. Các vị thuốc là thảo mộc được chia nhỏ đến kích thước thích hợp. Dược liệu động vật có thể dùng tươi hay sấy khô, tán bột.

Phương pháp điều chế: Rượu thuốc có thể điều chế theo phương pháp thích hợp (ngâm hoặc chiết). Khi điều chế rượu thuốc từ thang thuốc, do thành phần dược liệu đa dạng, bản chất dược liệu khác nhau nên có thể phải chiết riêng một số dược liệu để chiết xuất được tối đa hoạt chất.

Dung môi để ngâm thường dùng rượu trắng hoặc ethanol loãng. Tỷ lệ dung môi, hàm lượng ethanol, nhiệt độ ngâm, thời gian ngâm, tốc độ chiết theo yêu cầu quy định của từng công thức.

Yêu cầu chất lượng

Màu sắc: Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng.

Cách tiến hành: Lấy ở 2 chai rượu trong mỗi lô sản xuất, mỗi chai 5 ml, cho vào 2 ống nghiệm (thủy tinh không màu, đồng cỡ). Quan sát màu của hai ống ở ánh sáng thiên nhiên bằng cách nhìn ngang, màu sắc của hai ống phải như nhau và đúng như màu sắc đã quy định trong chuyên luận riêng.

Mùi vị: Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng. Rượu thuốc có thể có mùi thơm của dược liệu, có vị ngọt do thêm đường hoặc mật ong.

Độ trong và độ đồng nhất: Rượu thuốc phải trong, đồng nhất, không có cặn bã dược liệu và vật lạ.

Cách tiến hành: Quan sát toàn chai rượu, không được có váng mốc. Hút 5 ml rượu thuốc ở vị trí cách đáy chai khoảng 2 cm, cho vào ống nghiệm (thủy tinh không màu, dung tích 10 ml đến 20 ml), quan sát ở ánh sáng thiên nhiên bằng cách nhìn ngang. Thuốc phải trong và đồng nhất. Nếu không đạt yêu cầu, thử lại lần thứ hai với một chai thuốc khác. Lần này không đạt thì lô thuốc coi như không đạt tiêu chuẩn.

Hàm lượng ethanol: Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng. Xác định hàm lượng ethanol theo Phụ lục 10.12.

Tỷ trọng: Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận. Xác định tỷ trọng theo Phụ lục 6.5.

Độ lắng cặn: Theo yêu cầu quy định trong từng chuyên luận.

Cách tiến hành: Quan sát toàn chai rượu (thể tích 500 ml, nếu không có qui định khác), nếu thấy có cặn thì để yên khoảng 48 giờ, sau đó mở nút và thận trọng dùng ống cao su hay ống nhựa làm xi phông, hút phần rượu ở phía trên, để còn lại 15 ml đến 20 ml (đối với rượu có thể tích cặn không quá 0,5 ml) hoặc 40 - 50 ml (đối với rượu có thể tích cặn trên 0,5 ml). Lắc cặn trong chai cho tan, rót hết sang ống đong 25 ml (chia độ 0,5 ml) hoặc 50 ml (chia độ 1 ml) có nút. Lấy phần rượu trong đã hút xi phông để tráng chai, đổ vào ống đong rồi thêm rượu thuốc vừa đủ 25 ml hoặc 50 ml. Để lắng 48 giờ, đọc kết quả trên vạch chia của ống đong. Mỗi loại rượu phải đạt được yêu cầu của tiêu chuẩn đề ra. Sau khi đọc kết quả, nghiêng ống đong nhẹ để gạn lớp rượu ở trên, lấy lớp cặn ra bát sứ trắng để quan sát. Trong lớp cặn phải không được có bã dược liệu và vật lạ.

Cặn sau khi sấy khô: Theo yêu cầu quy định trong từng chuyên luận. Tiến hành theo một trong hai phương pháp sau đây:

Phương pháp 1: Áp dụng với các rượu thuốc có chứa đường hoặc mật ong.

Lấy chính xác 50 ml chế phẩm vào cốc miệng rộng, bốc hơi đến khô trên cách thủy, chiết bằng *ethanol* (TT) bằng cách thêm vào cặn lần lượt, 4 lần, mỗi lần 10 ml *ethanol* (TT), dùng thìa thủy tinh khuấy kỹ, lọc. Gộp các dịch lọc vào một chén sứ đã được xác định khối lượng, bay hơi trên cách thủy đến khô, sấy cặn ở 105 °C trong 3 giờ, để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân. Xác định khối lượng cặn thu được.

Phương pháp 2: Áp dụng với các rượu thuốc không chứa đường hoặc mật ong.

Lấy chính xác 50 ml chế phẩm vào một chén sứ đã được xác định khối lượng, bay hơi trên cách thủy đến khô, sấy cặn ở 105 °C trong 3 giờ, để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân. Xác định khối lượng cặn thu được.

Thể tích: Theo yêu cầu và cách thử ở Phụ lục 11.1.

Methanol: Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng. Xác định theo Phụ lục 10.13.

Định tính, định lượng và các chỉ tiêu khác: Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng.

Bảo quản

Trong đồ đựng thích hợp, đậy kín. Để ở nơi khô mát, tránh ánh sáng.

1.23 THUỐC THANG

Thuốc thang được cấu tạo từ các vị thuốc đã qua chế biến và phối hợp theo phương pháp của y học cổ truyền, bao gồm 2 dạng: Thuốc sắc và ngâm rượu. Với dạng sắc, thường được bào chế bằng cách đun sôi với nước sạch; dạng ngâm rượu, thường được ngâm với ethanol 30 % đến 40 %, trong thời gian thích hợp.

Đặc điểm của thuốc thang

Là dạng thuốc rất thông dụng, được dùng rộng rãi để phòng và điều trị nhiều chứng bệnh khác nhau, đối với các lứa tuổi, các mùa trong năm.

Dễ gia giảm theo triệu chứng của bệnh, do đó thường cho hiệu quả cao trong điều trị.

Được hấp thu nhanh qua đường tiêu hóa. Tuy vậy thuốc thang thường dùng cho cả thể, bởi vậy, cũng gặp khó khăn nhất định trong bào chế.

Cấu tạo

Với thuốc thang dùng để uống thường được cấu tạo theo nguyên lý của y học cổ truyền; mỗi thang thuốc phải có đủ các thành phần: Quân, Thần, Tá, Sứ, với các công năng, chủ trị, cách dùng cụ thể của nó (cổ phương, tân phương).

Đôi khi, những phương thuốc gia truyền, hoặc các phương thuốc trong dân gian, cũng không hoàn toàn theo nguyên tắc đó. Nhưng phải đảm bảo tính an toàn và hiệu quả cao trong điều trị cho người bệnh.

Liều lượng của thuốc thang

Số vị trong thang, nhiều hay ít tùy theo từng thang, khối lượng của từng vị trong thang tùy theo tuổi, theo tình trạng của người bệnh (nếu là cổ phương thường được giữ nguyên số vị và khối lượng). Tuy nhiên, trong những điều kiện cụ thể có thể thay đổi cho phù hợp. Đối với các vị thuốc có tính độc, liều lượng phải thực hiện theo đúng với quy định hiện hành.

Yêu cầu chất lượng

Các vị thuốc trước khi làm thang phải đạt yêu cầu chất lượng qui định trong từng chuyên luận riêng.

Độ đồng đều khối lượng: Các vị thuốc trong thang phải đạt yêu cầu Phép thử độ đồng đều khối lượng của Thuốc hoàn (Phụ lục 1.11. Bảng 3).

Độ nhiễm khuẩn: Thuốc thang phải đạt yêu cầu về độ nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6).

Dụng cụ để sắc thuốc

Dụng cụ để sắc thuốc rất đa dạng, có thể dùng siêu đất, hoặc dụng cụ bằng thép không gỉ, không dùng các dụng cụ bằng gang, đồng, sắt. Hiện nay có nhiều loại dụng cụ sắc thuốc được đun nóng bằng điện, cần chú ý theo dõi để tránh ảnh hưởng đến chất lượng của thuốc.

Nước dùng để sắc thuốc

Nước dùng để sắc thuốc phải là nước sạch, dùng để uống được. Lượng nước đưa vào mỗi thang cần vừa

đủ để hoạt chất có thể chiết xuất được. Tùy theo dung tích của dụng cụ sắc, mức nước thường cao hơn mặt thoáng của thuốc khoảng 2 cm.

Nhiệt độ và thời gian sắc thuốc

Nhiệt độ và thời gian sắc thuốc phụ thuộc vào tính chất của thang thuốc.

Nếu thang thuốc lấy khí là chính (chất bay hơi), trong thành phần chứa tinh dầu, và các chất bay hơi: Thuốc giải biểu, thuốc ôn trung..., lúc đầu thường dùng lửa to (vũ hỏa), để nhanh chóng nâng nhiệt độ của thuốc đến sôi, sau đó giảm độ lửa, duy trì ở 70 °C đến 80 °C trong thời gian 10 phút đến 15 phút. Nếu thang thuốc lấy vị là chính (thuốc bổ, thuốc thanh nhiệt...), có thể đun sôi 1 giờ đến 2 giờ. Tuy nhiên trên thực tế, trong một thang thuốc, thường bao gồm cả vị thuốc lấy khí và lấy vị, do đó trong quá trình sắc thuốc cần chú ý duy trì nhiệt độ và thời gian thích hợp.

Nhiên liệu dùng sắc thuốc

Nhiên liệu sắc thuốc rất đa dạng, có thể dùng củi, rơm, rạ..., song tránh dùng củi khi cháy cho chất độc hoặc có mùi khó chịu; có thể dùng than khi đã cháy hồng để tránh mùi khí than; hiện nay còn dùng điện, dùng khí đốt. Cần chú ý rằng, với nguồn nhiên liệu khác nhau thì nhiệt lượng cung cấp sẽ khác nhau, do đó thời gian sắc thuốc nên tính từ lúc sôi và cần theo dõi để tránh bị cháy.

Cách uống thuốc

Tùy theo tính chất của bệnh và tính chất của thang thuốc mà cách uống thuốc có khác nhau. Các bệnh thuộc thể hàn: cảm mạo phong hàn, trúng hàn... tính chất của thang thuốc thường ôn, nhiệt, cần uống khi còn nóng. Các bệnh thể nhiệt, tính chất của thang thuốc thường hàn, lương, thường uống nguội.

Các thang thuốc mang tính chất tả (tả hạ, thanh nhiệt...), thường uống lúc đói. Tuy nhiên, nếu đói quá dễ cồn cào, buồn nôn, do đó cần ăn một chút ít để tránh cồn ruột.

Các thang thuốc mang tính chất bổ (bổ khí, huyết, âm, dương), thường uống sau khi ăn 1,5 giờ đến 2 giờ.

Kiêng kỵ khi dùng thuốc thang

Khi dùng thuốc thang, cũng kiêng kỵ theo nguyên tắc chung của y học cổ truyền. Nếu uống thuốc mang tính ôn nhiệt, cần kiêng các thức ăn sống lạnh: ốc, rau giền... Nếu uống thuốc mang tính hàn lương, cần kiêng các thức ăn cay nóng và kích thích: ớt, rượu, hạt tiêu... Một số vị thuốc kiêng đặc biệt: miết giáp kỵ rau giền, hành kỵ mật ong, kinh giới kỵ thịt gà... Ngoài ra cần chú ý đến một số thang thuốc có các vị có tính độc, phải kiêng cho phụ nữ có thai, hoặc sau khi đẻ, hoặc trẻ em dưới 15 tuổi: phụ tử chế, quế chi, cà độc dược...

Lưu ý khi dùng thuốc thang

Để phát huy được hiệu quả của thuốc thang, người ghi đơn cần chú ý:

Không ghi các vị thuốc mang tính chất tương kỵ.

Ghi các vị thuốc cần sắc sau, để người cân thuốc có thể dễ riêng.

Để có thể phối hợp hài hòa giữa các lần sắc thuốc: Lần 1, đun sôi (kể từ lúc sôi) 20 phút đến 30 phút; lần 2, đun sôi 40 phút đến 1 giờ; lần 3, đun sôi 1 giờ. Dịch thuốc sắc của mỗi lần, lấy khoảng 1 bát (100 ml). Có thể uống riêng từng lần; hoặc uống riêng nước lần 1, nước lần 2 và 3 trộn đều chia đôi, uống 2 lần nữa; hoặc trộn đều cả 3 lần sắc, rồi chia 3 lần uống.

1.24 CHÈ THUỐC**Định nghĩa**

Là dạng thuốc rắn được bào chế từ hoa, lá hoặc bột thô dược liệu và các tá dược thích hợp dưới dạng gói hay bánh nhỏ. Khi dùng, đem hãm với nước sôi trong khoảng thời gian thích hợp để uống.

Phương pháp bào chế

Chè gói: Dược bào chế chủ yếu từ các dược liệu là hoa lá mỏng manh. Dược liệu được sao nhỏ lửa hay sấy nhẹ (dưới 80 °C) đến khô rồi vò thành mảnh nhỏ, xát qua sàng (rây) có cỡ mắt rây 2 mm đến 5 mm. Các dược liệu có cấu tạo rắn chắc nếu có ở tỉ lệ thích hợp, thường được nghiền thành bột thô hoặc bào chế thành cao lỏng để phun vào chè trong khi sấy. Trộn đều dược liệu theo tỉ lệ trong công thức rồi đóng túi theo khối lượng quy định (nếu có cao lỏng thì phun vào chè, tiếp tục sấy khô rồi đóng gói). Túi đựng chè có thể là túi giấy thường, túi giấy lọc hay túi PE. Việc đóng túi có thể thực hiện bằng các loại máy đóng túi tự động. Túi chè cần được đóng kín, hạn chế sự hút ẩm trở lại trong quá trình bảo quản.

Chè bánh: Thường được bào chế từ các dược liệu có cấu tạo rắn chắc như thân, cành, rễ,... Dược liệu được chế biến, sấy khô rồi nghiền thành bột thô qua rây có số rây 1000 đến 2000. Thêm tá dược dính thích hợp tạo thành khối ẩm (hồ tinh bột, si rô, cao đặc, bột đường,...) rồi lèn hay nén thành bánh theo khuôn. Chè bánh sau khi tháo khỏi khuôn đưa sấy đến độ ẩm quy định rồi đóng gói thích hợp.

Tiêu chuẩn chất lượng

Phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận riêng và các qui định dưới đây:

Độ ẩm:

Chè gói: Độ ẩm không được vượt quá 10 % (Phụ lục 9.6), nếu không có chỉ dẫn khác.

Chè bánh: Độ ẩm không được vượt quá 7 % (Phụ lục 9.6), nếu không có chỉ dẫn khác.

Độ đồng đều khối lượng:

Cân riêng biệt 10 đơn vị đóng gói, xác định khối lượng trung bình. So sánh khối lượng từng đơn vị với khối lượng trung bình. Chênh lệch khối lượng phải nằm trong giới hạn sau:

Khối lượng trung bình	Giới hạn chênh lệch cho phép (%)
Tới 2 g	15
Trên 2 g đến 5 g	12
Trên 5 g đến 10 g	10
Trên 10 g đến 20 g	6
Trên 20 g đến 40 g	5
Trên 40 g	4

Độ nhiễm khuẩn: Chè thuốc phải đạt yêu cầu về độ nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6).

PHỤ LỤC 2

2.1 CÁC THUỐC THỬ CHUNG

2.1.1 HÓA CHẤT VÀ THUỐC THỬ

Acetaldehyd $C_2H_4O = 44,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng trong, không màu, dễ cháy. Hòa trộn với nước, ethanol, cloroform và ether.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,788.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,332.

Điểm sôi: Khoảng 21 °C.

Aceton*Propan - 2 - on* $C_3H_6O = 58,08$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng dễ bay hơi, dễ bắt lửa.

Điểm sôi: Khoảng 56 °C.

Khối lượng riêng: Khoảng 0,79 g/ml.

Hàm lượng nước: Không được quá 0,3 % (kl/kl) (Phụ lục 10.3), dùng *pyridin khan* (TT) làm dung môi.**Acetonitril***Methyl cyanid* $C_2H_3N = 41,05$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,78.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,344.

Phần chưng cất được trong khoảng 80 °C đến 82 °C không được ít hơn 95 %.

Acetonitril dùng trong phương pháp quang phổ

Độ truyền quang: Không được nhỏ hơn 98 % trong khoảng bước sóng từ 255 đến 420 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Acetonitril dùng trong phương pháp sắc kýHàm lượng C_2H_3N không được ít hơn 99,8 %.

Độ truyền quang: Không được nhỏ hơn 98 % ở bước sóng 240 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Acetyl clorid $C_2H_3ClO = 78,50$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,10.

Phần chưng cất được trong khoảng 49 °C đến 53 °C không được ít hơn 95 %.

Acetyltyrosin ethyl ester*Ethyl N-acetyl-L-tyrosinat* $C_{13}H_{17}NO_4 \cdot H_2O = 269,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu trắng.

Góc quay cực riêng ở 20 °C: +21° đến +25°, dung dịch 1 % (kl/tt) trong *ethanol* (TT).Giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 278 nm: 60 đến 68, dung dịch trong *ethanol* (TT).✕ **Acid acetic băng**

Acid acetic kết tinh được.

 $CH_3COOH = 60,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, mùi hăng cay.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,05 g/ml.

Điểm đông đặc: Khoảng 16 °C.

Hàm lượng CH_3COOH : Không được nhỏ hơn 98,0 % (kl/kl).✕ **Dung dịch acid acetic xM**Pha loãng 57x ml (60x g) *acid acetic băng* (TT) với nước vừa đủ 1000 ml.**Acid acetic** (Dung dịch acid acetic 30 % - Dung dịch acid acetic 5 M)Pha loãng 30 g *acid acetic băng* (TT) với nước vừa đủ 100 ml.Hàm lượng CH_3COOH khoảng 29,0 % đến 31,0 %.**Acid acetic loãng** (Dung dịch acid acetic 12 % - Dung dịch acid acetic 2 M)Pha loãng 12 g *acid acetic băng* (TT) với nước vừa đủ 100 ml.Hàm lượng CH_3COOH khoảng 11,5 % đến 12,5 %.**Dung dịch acid acetic 6 %**Lấy 100 ml *dung dịch acid acetic 30 %* (TT), pha loãng với nước vừa đủ 500 ml.✕ **Acid acetic khan** $CH_3COOH = 60,1$ Acid acetic băng dùng trong chuẩn độ môi trường khan, hàm lượng CH_3COOH không ít hơn 99,6 % (kl/kl).

Tỷ trọng ở 20 °C: Từ 1,052 đến 1,053.

Điểm sôi: 117 °C đến 119 °C.

Hàm lượng nước: Không được quá 0,4 % (kl/kl) (Phụ lục 10.3). Nếu hàm lượng nước lớn hơn 0,4 %, làm khan bằng cách cho thêm *anhydrid acetic* (TT) (7 ml cho mỗi gam nước).**Dung dịch acid peroxyacetic**Pha loãng 1 ml *hydrogen peroxyd 100 tt* (TT) thành 100 ml với *acid acetic khan* (TT). Lắc đều, để yên 12 giờ trước khi sử dụng.

Chỉ dùng trong vòng 24h.

Acid 4- aminobenzoic $C_7H_7NO_2 = 137,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể màu trắng, chuyển sang màu vàng nhạt khi tiếp xúc với không khí và ánh sáng. Rất dễ tan trong nước sôi, ethanol, ether và acid acetic, tan rất ít trong nước.

Điểm chảy: Khoảng 188 °C.

Dung dịch acid 4-aminobenzoic

Hòa tan 1 g *acid 4-aminobenzoic (TT)* trong hỗn hợp gồm 18 ml *acid acetic khan (TT)*, 20 ml *nước* và 1 ml *acid phosphoric (TT)*. Trước khi dùng trộn 2 thể tích dung dịch trên với 3 thể tích *aceton (TT)*.

Acid (4-aminobenzoyl)-L-glutamic

$C_{12}H_{14}N_2O_5 = 266,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm chảy: Khoảng 173 °C.

Acid 3-aminomethylalirazin-N,N-diacetic

Acid aminomethylalirazindiacetic

$C_{19}H_{15}NO_8 \cdot 2H_2O = 421,4$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột mịn màu nâu cam hay vàng nhạt.

Điểm chảy: Khoảng 185 °C.

Phải đạt yêu cầu sau:

Mất khối lượng do làm khô: Không quá 10,0 %, dùng 1 g.

Thuốc thử acid aminomethylalirazin-N,N-diacetic

Dung dịch I: Hòa tan 0,36 g *ceri (III) nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 50 ml.

Dung dịch II: Phân tán 0,7 g *acid 3-aminomethylalirazin-N,N-diacetic (TT)* trong 50 ml *nước*. Hòa tan bằng cách thêm 0,25 ml *amoniac (TT)*. Thêm 0,25 ml *acid acetic băng (TT)* và *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch III: Hòa tan 6 g *natri acetat (TT)* trong 50 ml *nước*, thêm 11,5 ml *acid acetic băng (TT)* và *nước* vừa đủ 100 ml.

Lấy 33 ml *aceton (TT)*, thêm 6,8 ml dung dịch III, 1,0 ml dung dịch II, 1,0 ml dung dịch I và *nước* vừa đủ 50 ml.

Chỉ dùng trong vòng 5 ngày.

Phải đạt yêu cầu sau:

Độ nhạy: Lấy 1,0 ml *dung dịch fluorid chuẩn 10 phần triệu (TT)*, thêm 19,0 ml *nước* và 5,0 ml thuốc thử. Sau 20 phút, dung dịch có màu xanh lam nhận thấy rõ.

Acid 8-aminonaphthalen-2-sulfonic

Acid 8-amino-2-naphthalensulfonic; Acid 1-naphthylamin-7-sulfonic

$C_{10}H_9NO_3S = 223,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Dung dịch acid aminonaphthalensulfonic

Trộn 0,5 g *acid 8-aminonaphthalen-2-sulfonic (TT)*, 30 ml *acid acetic băng (TT)* với 120 ml *nước*, đun nóng và khuấy cho đến khi hòa tan hoàn toàn. Để nguội, lọc.

Sử dụng dung dịch trong vòng 3 tuần.

Acid benzoic

$C_6H_5COOH = 122,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Acid boric

$H_3BO_3 = 61,83$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch acid boric 5 %

Hòa tan 5 g *acid boric (TT)* trong *nước* nóng, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid boric 3 %

Hòa tan 3 g *acid boric (TT)* trong *nước* nóng, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid boric

Hòa tan 5 g *acid boric (TT)* trong hỗn hợp 20 ml *nước* và 20 ml *ethanol (TT)*. Thêm *ethanol (TT)* vừa đủ 250 ml.

Acid citric

$C_6H_8O_7 \cdot H_2O = 210,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Acid citric dùng trong phép thử giới hạn sắt phải thỏa mãn yêu cầu sau:

Hòa tan 0,5 g *acid citric (TT)* trong 10 ml *nước*, thêm 0,1 ml *acid mercaptoacetic (TT)*, trộn đều, kiểm hóa bằng dung dịch *amoniac 10 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 20 ml. Màu hồng không được xuất hiện.

Dung dịch acid citric 18 %

Hòa tan 18 g *acid citric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Acid cloroplatinic

$H_2PtCl_6 + \text{nước}$

Dùng loại tinh khiết hóa học, hàm lượng không ít hơn 37 % (kl/kl) Pt.

Khối tinh thể màu nâu, dễ chảy nước.

Định lượng: Nung 0,2 g hóa chất đến khối lượng không đổi ở 900 °C và cân cần còn lại (platin).

Acid cromic (dung dịch)

Hòa tan 84 g *crom trioxyd (TT)* trong 700 ml *nước*, vừa thêm vừa khuấy với 400 ml *acid sulfuric (TT)*.

Acid cyclohexylenedinitrilotetra-acetic

Acid (±)-trans-1,2-diaminocyclohexan-N,N,N',N'-tetra-acetic

$C_{14}H_{22}N_2O_8 \cdot H_2O = 364,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh trắng.

Điểm chảy: Khoảng 204 °C.

Acid 3-cyclohexylpropionic

$C_9H_{16}O_2 = 156,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,998.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,4648.

Điểm sôi: Khoảng 130 °C.

Acid ethylenedinitrilotetra-acetic

$C_{10}H_{16}N_2O_8 = 292,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm chảy: Khoảng 250 °C.

Acid 2-ethylhexanoic

Acid 2-ethylhexoic

$C_8H_{16}O_2 = 144,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,91.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,425.

Phải đáp ứng phép thử sau:

Tạp chất liên quan: Tiến hành bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2), dùng 1 µl dung dịch được chuẩn bị như sau: Trộn đều 0,2 g chế phẩm trong 5 ml nước, thêm 3 ml *dung dịch acid hydrochloric 2 N (TT)* và 5 ml *hexan (TT)*, lắc trong 1 phút, để yên cho tách lớp. Sử dụng lớp trên.

Sử dụng cách tiến hành như mô tả trong phép thử acid 2-ethylhexanoic, chuyên luận Amoxicilin natri. Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 2,5 % diện tích của pic chính.

Acid fluofenamic

$C_{14}H_{10}F_3NO_2 = 281,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể hình kim hay bột kết tinh màu vàng nhạt.

Điểm chảy: 132 °C đến 135 °C.

Acid formic

$HCOOH = 46,03$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, mùi hăng cay và rất ăn da.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,20 g/ml.

Hàm lượng $HCOOH$: Khoảng 90 % (kl/kl).

Acid formic khan

$HCOOH = 46,03$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, mùi hăng cay và rất ăn da.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,22.

Hàm lượng $HCOOH$: Không ít hơn 98,0 % (kl/kl).

Định lượng: Cân chính xác một bình nón đã chứa sẵn 10 ml nước, cho nhanh vào khoảng 1 ml *acid formic (TT)* rồi cân lại. Thêm 50 ml nước và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CD)*, dùng 0,5 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CD)* tương đương với 46,03 mg $HCOOH$.

× Acid hydrochloric (Acid hydrochloric đậm đặc)

$HCl = 36,46$.

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng trong, không màu, bốc khói.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,18.

Hàm lượng HCl : 35 % đến 38 % (kl/kl), khoảng 11,5 M.

Bảo quản ở nhiệt độ không quá 30 °C, trong bao bì bằng polyetylen hoặc vật liệu không phản ứng với acid hydrochloric.

× Dung dịch acid hydrochloric xM

Pha loãng 85x ml *acid hydrochloric (TT)* với nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch acid hydrochloric 25 %

Pha loãng 61 ml *acid hydrochloric (TT)* với nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid hydrochloric 16 %

Pha loãng 39 ml *acid hydrochloric (TT)* với nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid hydrochloric 10 %

Pha loãng 24 ml *acid hydrochloric (TT)* với nước vừa đủ 100 ml.

× Dung dịch acid hydrochloric loãng

Pha loãng 17 ml *acid hydrochloric (TT)* với nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid hydrochloric 1 %

Pha loãng 2,4 ml *acid hydrochloric (TT)* với nước vừa đủ 100 ml.

Acid hydrochloric brom hóa

Dùng loại acid hydrochloric brom hóa có hàm lượng arsen thấp, hoặc điều chế bằng cách thêm 1 ml *dung dịch brom (TT)* vào 100 ml *acid hydrochloric (TT)*.

Dung dịch acid hydrochloric thiếc hóa

Dùng loại acid hydrochloric thiếc hóa có hàm lượng arsen thấp, hoặc điều chế bằng cách thêm 1 ml *dung dịch thiếc (II) clorid (TT)* vào 100 ml *acid hydrochloric (TT)*.

Dung dịch acid hydrochloric trong ethanol

Pha như các dung dịch acid hydrochloric khác, nhưng thay nước bằng *ethanol 96 % (TT)*.

Nếu không ghi cụ thể nồng độ, dùng dung dịch sau: Pha loãng 5 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT)* thành 500 ml với *ethanol 96 % (TT)*.

Dung dịch acid hydrochloric trong methanol

Pha như các dung dịch acid hydrochloric khác, nhưng thay nước bằng *methanol (TT)*.

Acid hydrochloric không có kim loại nặng

Phải đáp ứng các yêu cầu của *acid hydrochloric (TT)* và nồng độ tối đa của các kim loại nặng như sau:

As: 0,005 phần triệu; Cd: 0,003 phần triệu; Cu: 0,003 phần triệu; Fe: 0,05 phần triệu; Hg: 0,005 phần triệu; Ni: 0,004 phần triệu; Pb: 0,001 phần triệu; Zn: 0,005 phần triệu.

Acid mercaptoacetic

Acid thioglycolic

$HSCH_2COOH = 92,12$.

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu, có mùi khó chịu.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,33 g/ml.

Acid nitric (Acid nitric đậm đặc)

$HNO_3 = 63,01$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng bốc khói, ăn mòn, có nồng độ khoảng 16 M.
 Khối lượng riêng: Khoảng 1,42 g/ml.
 Hàm lượng HNO_3 : Khoảng 70 % (kl/kl).

Dung dịch acid nitric xM

Pha loãng 63x ml *acid nitric* (TT) với nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch acid nitric 50 %

Pha loãng 80 g *acid nitric* (TT) với nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid nitric 32 %

Pha loãng 46 g *acid nitric* (TT) với nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid nitric 25 %

Pha loãng 40 g *acid nitric* (TT) với nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid nitric 16 %

Pha loãng 23 g *acid nitric* (TT) với nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid nitric 12,5 % (Dung dịch acid nitric 2 M-Acid nitric loãng)

Pha loãng 20 g *acid nitric* (TT) với nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid nitric 10 %

Pha loãng 15 g *acid nitric* (TT) với nước vừa đủ 100 ml.

Acid nitric bốc khói

$\text{HNO}_3 = 63,01$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng màu vàng, bốc khói, ăn mòn.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,5.

Hàm lượng HNO_3 : Khoảng 95 % (kl/kl).

Acid nitric không có chì

Phải đáp ứng phép thử sau:

Chì: không quá 0,1 phần triệu (Phụ lục 4.4). Đo độ hấp thụ ở 283,3 nm hoặc 217 nm, dùng đèn cathod rỗng chì, ngọn lửa acetylen - không khí. Dung dịch thử được chuẩn bị như sau: Thêm 0,1 g *natri carbonat khan* (TT) vào 100 g *acid nitric* (TT) và bốc hơi tới khô. Hòa tan cẩn trong nước bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 50 ml với nước.

Acid nitric không có cadmi và chì

Phải đáp ứng các phép thử sau:

Cadmi: Không được quá 0,1 phần triệu (Phụ lục 4.4). Đo độ hấp thụ ở 228,8 nm, dùng đèn cathod rỗng cadmi và ngọn lửa acetylen-không khí hay không khí - propan. Dung dịch thử được chuẩn bị như sau: Thêm 0,1 g *natri carbonat khan* (TT) vào 100 g *acid nitric* (TT) và bốc hơi tới khô. Hòa tan cẩn trong nước bằng cách đun nóng nhẹ, pha loãng thành 50 ml với nước.

Chì: Không quá 0,1 phần triệu, xác định như acid nitric không có chì.

Acid nitric không có kim loại nặng

Phải đáp ứng các yêu cầu của *acid nitric* (TT) và nồng độ tối đa của các kim loại nặng như sau:

As: 0,005 phần triệu, Cd: 0,005 phần triệu, Cu: 0,001 phần triệu, Fe: 0,02 phần triệu, Hg: 0,002 phần triệu, Ni: 0,005 phần triệu, Pb: 0,001 phần triệu, Zn: 0,01 phần triệu.

Acid oxalic

$(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 126,07$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể màu trắng. Tan trong nước, dễ tan trong ethanol.

Dung dịch acid oxalic 10 %

Hòa tan 10 g *acid oxalic* (TT) trong nước và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid oxalic 6,3 %

Hòa tan 6,3 g *acid oxalic* (TT) trong nước và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid oxalic 5 %

Hòa tan 5 g *acid oxalic* (TT) trong nước và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid oxalic 4 %

Hòa tan 4 g *acid oxalic* (TT) trong nước và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid oxalic trong acid sulfuric

Hòa tan 5 g *acid oxalic* (TT) trong hỗn hợp 50 ml nước và 50 ml *acid sulfuric* (TT) đã để nguội.

Acid perchloric

$\text{HClO}_4 = 100,46$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng trong, không màu, hỗn hợp được với nước. Rất ăn mòn, có thể gây cháy nổ khi tiếp xúc với chất dễ oxy hóa.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,7 g/ml.

Hàm lượng HClO_4 : 70,0 % đến 73,0 % (kl/kl).

Dung dịch acid perchloric xM

Pha loãng 82x ml *acid perchloric* (TT) với nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch acid perchloric

Pha loãng 8,5 ml *acid perchloric* (TT) với nước vừa đủ 100 ml (khoảng 0,1 M).

Acid phosphomolybdic

Acid dodecamolybdophosphoric

$\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3 \cdot 24\text{H}_2\text{O} = 2258$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể mịn, màu vàng cam. Tan trong nước, ethanol và ether.

Dung dịch acid phosphomolybdic 10 % trong ethanol

Hòa tan 10 g *acid phosphomolybdic* (TT) trong ethanol 96 % (TT) vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid phosphomolybdic 5 % trong ethanol

Hòa tan 5 g *acid phosphomolybdic* (TT) trong ethanol 96 % (TT) và thêm ethanol 96 % (TT) vừa đủ 100 ml.

Acid phosphoric (Acid phosphoric đậm đặc)*Acid orthophosphoric* $H_3PO_4 = 98,00$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng ăn mòn.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,75 g/ml.

Hàm lượng H_3PO_4 : Không được nhỏ hơn 84 % (kl/kl).**Dung dịch acid phosphoric 25 %**Pha loãng 30 g *acid phosphoric (TT)* với nước vừa đủ 100 ml.**Dung dịch acid phosphoric 10 %**Pha loãng 12 g *acid phosphoric (TT)* với nước vừa đủ 100 ml.**Dung dịch acid phosphoric 3 %**Pha loãng 3,5 g *acid phosphoric (TT)* với nước vừa đủ 100 ml.**Acid picric***2,4,6 - Trinitrophenol* $C_6H_3O_7N_3 = 229,11$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể hình vẩy nhỏ hay lăng trụ, hay bột kết tinh màu vàng nhạt, bóng, không mùi, được làm ẩm đồng lượng với nước để đảm bảo an toàn, nổ khi đun nóng nhanh hoặc bị va đập.

Bảo quản ẩm với nước.

Dung dịch bão hòa acid picricCho dần 100 ml nước vào 12,3 g *acid picric (TT)*, lắc liên tục, để yên 24 giờ, thỉnh thoảng lắc đều.

Bảo quản trong lọ thủy tinh màu nút mài, tránh ánh sáng.

Dung dịch acid picric 1 %Hòa tan 1 g *acid picric (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.**Dung dịch acid picric**Thêm 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* vào 100 ml *dung dịch bão hòa acid picric (TT)*.**Dung dịch natri picrat kiềm**Trộn 20 ml *dung dịch acid picric 1 % (TT)* với 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 5 % (TT)*, thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ dùng trong vòng 2 ngày.

Acid pterotic*Acid 4-[(2-amino-4-oxo-1,4-dihydropteridin-6-yl)methyl]amino}benzoic* $C_{14}H_{12}N_6O_3 = 312,3$

Tinh thể, tan trong các dung dịch kiềm.

Acid salicylic $C_7H_6O_3 = 138,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch acid salicylic 0,024 %Hòa tan 0,24 g *acid salicylic (TT)* trong nước vừa đủ 1000 ml.

Pha trước khi dùng.

Dung dịch acid salicylic 0,01 %Hòa tan 0,10 g *acid salicylic (TT)* trong nước vừa đủ 1000 ml.

Pha trước khi dùng.

Acid selenic $H_2SeO_3 = 129,0$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bảo quản trong bao bì kín.

Acid silicowolframic*Acid silicotungstic* $H_4[Si(W_3O_{10})_4].xH_2O = 2878,29$ (khan)

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể màu trắng hay trắng ngà, dễ chảy nước. Rất dễ tan trong nước và ethanol.

Dung dịch acid silicowolframic 10 %Hòa tan 10 g *acid silicowolframic (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.**Dung dịch acid silicowolframic 5 %** (Thuốc thử Bertrand)Hòa tan 5 g *acid silicowolframic (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.**Dung dịch acid silicowolframic 0,2 %**Hòa tan 0,2 g *acid silicowolframic (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.**Acid sulfamic** $H_3NO_3S = 97,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Dễ tan trong nước, hơi tan trong acetone, ethanol 96 % và methanol, thực tế không tan trong ether.

Điểm chảy: Khoảng 205 °C kèm phân hủy.

Acid sulfanilic $C_6H_7NO_3S = 173,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột màu trắng hay gần như trắng. Rất dễ tan trong các dung dịch amoniac, natri hydroxyd và natri carbonat, tan trong nước nóng, tan rất ít trong nước.

Dung dịch acid sulfanilic 2,5 %Hòa tan 2,5 g *acid sulfanilic (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.**Dung dịch acid sulfanilic diazo hóa**Hòa tan 0,9 g *acid sulfanilic (TT)* trong 9 ml *acid hydrochloric (TT)* bằng cách đun nóng, pha loãng thành 100 ml với nước. Lấy 10 ml dung dịch thu được, làm lạnh trong nước đá và thêm 10 ml *dung dịch natri nitrit 4,5 % (TT)* đã được làm lạnh trước. Để trong nước đá 15 phút, trước khi dùng thêm 20 ml *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)*.

Dung dịch acid sulfanilic diazo hóa (TT)

Hòa tan bằng cách đun nóng 0,2 g *acid sulfanilic* (TT) trong 20 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 N* (TT). Làm lạnh trong nước đá, thêm từng giọt 2,2 ml *dung dịch natri nitrit 4 %* (TT), lắc liên tục. Để yên trong nước đá 10 phút, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfamic 5 %*.

Acid sulfosalicylic

$C_6H_3(OH)(SO_3H)COOH.2H_2O = 254,22$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Rất dễ tan trong nước và ethanol, tan trong ether.

Điểm chảy: Khoảng 109 °C.

Dung dịch acid sulfosalicylic

Hòa tan 100 g *acid sulfosalicylic* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Bảo quản trong lọ thủy tinh màu, tránh ánh sáng.

Acid sulfuric (Acid sulfuric đậm đặc)

$H_2SO_4 = 98,08$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng sánh, ăn mòn mạnh.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,84 g/ml.

Hàm lượng H_2SO_4 : Khoảng 96 % (kl/kl).

Dung dịch acid sulfuric xM

Cho cẩn thận 54x ml *acid sulfuric* (TT) vào đồng thể tích nước, thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch acid sulfuric 50 %

Cho từ từ 285 ml *acid sulfuric* (TT) vào 500 ml nước, lắc liên tục. Làm nguội, thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch acid sulfuric 38 %

Cho từ từ 22 ml *acid sulfuric* (TT) vào 60 ml nước, lắc liên tục. Làm nguội, thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid sulfuric 20 %

Cho từ từ 11,5 ml *acid sulfuric* (TT) vào 80 ml nước, lắc liên tục. Làm nguội, thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid sulfuric 10 % (Acid sulfuric loãng)

Cho từ từ 6 ml *acid sulfuric* (TT) vào 50 ml nước, lắc liên tục. Làm nguội, thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid sulfuric 5 %

Pha loãng gấp đôi *dung dịch acid sulfuric 10 %* (TT) với nước.

Dung dịch acid sulfuric 2 %

Pha loãng gấp 5 lần *dung dịch acid sulfuric 10 %* (TT) với nước.

Dung dịch acid sulfuric 1 %

Pha loãng gấp 10 lần *dung dịch acid sulfuric 10 %* (TT) với nước.

Dung dịch acid sulfuric trong ethanol

Pha như các dung dịch acid sulfuric khác, nhưng thay nước bằng ethanol 96 % (TT).

Nếu không ghi rõ nồng độ, dùng dung dịch sau: Cẩn thận và làm lạnh liên tục, khuấy 20 ml *acid sulfuric* (TT) với 60 ml ethanol 96 % (TT), để lạnh và pha loãng thành 100 ml với ethanol 96 % (TT).
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch acid sulfuric trong methanol

Pha như các dung dịch acid sulfuric khác, nhưng thay nước bằng methanol (TT).

Acid sulfuric không có kim loại nặng

Phải đáp ứng các yêu cầu của *acid sulfuric* (TT) và nồng độ tối đa của các kim loại nặng như sau:

As: 0,005 phần triệu, Cd: 0,002 phần triệu, Cu: 0,001 phần triệu, Fe: 0,05 phần triệu, Hg: 0,005 phần triệu, Ni: 0,002 phần triệu, Pb: 0,001 phần triệu, Zn: 0,005 phần triệu.

Acid sulfuric không có nitrogen

$H_2SO_4 = 98,08$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Có chứa khoảng 96 % (kl/kl) H_2SO_4 . Phải đáp ứng phép thử sau:

Nitrat: Lấy 5 ml nước, thêm cẩn thận vào 45 ml chế phẩm thử, để mát đến 40 °C và thêm 8 mg *N,N'-diphenylbenzidin*. Dung dịch có màu hồng nhạt hoặc màu xanh rất nhạt.

Acid tartaric

$C_4H_6O_6 = 150,09$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu hay bột kết tinh màu trắng. Dễ tan trong nước.

Dung dịch acid tartaric 20 %

Hòa tan 20 g *acid tartaric* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Acid toluensulfonic

Acid 4-methylbenzensulfonic; Acid toluen-p-sulfonic

$C_7H_8O_3S. H_2O = 190,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa ít nhất 87,0 % $C_7H_8O_3S$.

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol và ether.

Acid trichloroacetic

$C_2HCl_3O_2 = 163,4$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu, dễ chảy nước, có mùi hăng cay. Rất dễ tan trong ether và ethanol, tan trong nước.

Dung dịch acid trichloroacetic

Hòa tan 40,0 g *acid trichloroacetic* (TT) trong nước và pha loãng thành 1000,0 ml với cùng dung môi. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (CĐ) để xác định nồng độ dung dịch. Điều chỉnh nếu cần thiết để thu được dung dịch có nồng độ $(4 \pm 0,1) \%$.

Dung dịch acid trichloroacetic 10 % trong methanol

Hòa tan 10 g *acid trichloroacetic* (TT) trong methanol (TT) vừa đủ 100 ml.

Alcol amylic

Alcol isoamylic; 3-methylbutan-1-ol

$C_5H_{12}O = 88,15$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu.

Điểm sôi: Khoảng 130 °C.

Khối lượng riêng: Khoảng 0,81 g/ml.

Alizarin S

Alizarin đỏ S

$C_{14}H_7NaO_7S \cdot H_2O = 360,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu nâu vàng hay vàng cam. Dễ tan trong nước và ethanol 96 %.

Dung dịch alizarin S

Hòa tan 0,1 g *alizarin S (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Phải đáp ứng phép thử sau:

Độ nhạy với bari: Thêm 5 ml nước, 50 ml *dung dịch đậm acetat pH 3,7 (TT)* và 0,5 ml *dung dịch alizarin S (TT)* vào 5 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (CD)*.

Thêm từng giọt *dung dịch bari perchlorat 0,05 M (CD)*.

Màu chuyển từ vàng sang đỏ cam.

Khoảng chuyển màu: pH 3,7 (vàng) đến pH 5,2 (tím).

Amaranth S

$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3 = 604$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột mịn màu nâu đậm hoặc màu nâu đỏ đậm.

Khi dùng để chuẩn độ iod và iodid bằng kali iodat, màu chuyển từ đỏ cam sang vàng.

Dung dịch amaranth S 0,2 %

Hòa tan 0,2 g *amaranth S (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

3-Aminopropanol

3-Aminopropan-1-ol

$C_3H_9NO = 75,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng sánh, không màu, trong.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,99.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,461.

Điểm chảy: Khoảng 11 °C.

Aminopyrazolon

4-Aminophenazon

$C_{11}H_{13}N_3O = 203,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột hay tinh thể hình kim màu vàng nhạt.

Điểm chảy: Khoảng 108 °C.

Dung dịch aminophenazon (Dung dịch aminopyrazolon)

Dung dịch *4-aminophenazon 0,1 %* trong *dung dịch đậm borat pH 9,0*.

Amoni acetat

$CH_3CO_2NH_4 = 77,08$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu, rất dễ chảy nước. Rất dễ tan trong ether và ethanol, tan trong nước.

Dung dịch amoni acetat

Hòa tan 150 g *amoni acetat (TT)* trong nước, thêm 3 ml *acid acetic băng (TT)* và nước vừa đủ 1000 ml.

Chỉ dùng trong vòng 1 tuần sau khi pha.

Dung dịch amoni acetat 2 M (dung dịch amoni acetat 15,4 %)

Hòa tan 154 g *amoni acetat (TT)* trong nước vừa đủ 1000 ml.

Amoni carbonat

Amoni carbonat là hỗn hợp các tỷ lệ khác nhau của amoni hydrocarbonat ($NH_4HCO_3 = 79,1$) và amoni carbamat ($NH_2COONH_4 = 78,1$).

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột màu trắng trong. Tan trong nước, phân hủy trong nước nóng, không tan trong ethanol và dung dịch amoniac đậm đặc.

Hàm lượng NH_3 giải phóng ra không được ít hơn 30 % (kl/kl).

Bảo quản trong đồ đựng kín, ở nhiệt độ không quá 20 °C.

Dung dịch amoni carbonat 20 %

Hòa tan 20 g *amoni carbonat (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch bão hòa amoni carbonat

Hòa tan *amoni carbonat (TT)* trong nước đến khi thu được dung dịch bão hòa, lọc.

Dung dịch amoni carbonat loãng

Hòa tan 5 g *amoni carbonat (TT)* trong hỗn hợp 7,5 ml *dung dịch amoniac 5 M (TT)* và 50 ml nước, pha loãng thành 100 ml với nước, lọc nếu cần.

Amoni ceri sulfat

Xem Ceri amoni sulfat.

Amoni clorid

$NH_4Cl = 53,49$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể trắng, không mùi, vị mát và hơi mặn. Tan trong nước, tan trong ethanol.

Dung dịch amoni clorid 10 %

Hòa tan 10 g *amoni clorid (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Amoni dihydrophosphat

$(NH_4)H_2PO_4 = 115,0$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Amoni molybdat

$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O = 1235,86$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu hoặc màu lục vàng. Tan trong nước.

Dung dịch amoni molybdat

Hòa tan 15 g *amoni molybdat* (TT) trong 40 ml nước. Rót từ từ dung dịch thu được vào 130 ml *acid nitric loãng* (TT), khuấy liên tục. Để yên hỗn hợp trong 24 giờ, sau đó gạn lấy lớp trong.

Dung dịch không được vẫn đục khi đun tới 50 °C.

Trộn 5 ml dung dịch với 2 ml *dung dịch natri hydrophosphat* 0,01 %, đun nhẹ. Tủa vàng phải xuất hiện rõ. Nếu kết tủa ít, phải pha dung dịch amoni molybdat mới.

Bảo quản dung dịch ở chỗ tối. Nếu trong quá trình bảo quản xuất hiện tủa, gạn lấy phần trong.

Dung dịch amoni molybdat 5 % trong acid sulfuric

Hòa tan 0,5 g *amoni molybdat* (TT) trong 10 ml *acid sulfuric* (TT).

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch amoni molybdat - acid sulfuric

Hòa tan 10 g *amoni molybdat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml. Thêm từ từ dung dịch thu được vào 250 ml *dung dịch acid sulfuric* 10 M (TT) đã được làm lạnh.

Bảo quản trong chai nhựa, tránh ánh sáng.

Dung dịch sulphomolybdic

Hòa tan bằng cách đun nóng 2,5 g *amoni molybdat* (TT) trong 20 ml nước (dung dịch 1). Thêm từ từ 28 ml *acid sulfuric* (TT) vào 50 ml nước và làm lạnh (dung dịch 2). Trộn dung dịch 1 vào dung dịch 2, thêm nước vừa đủ 100 ml.

Bảo quản trong chai lọ polyethylen.

Amoni oxalat

$(\text{COONH}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O} = 142,11$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu. Tan trong nước.

Dung dịch amoni oxalat bão hòa

Hòa tan *amoni oxalat* (TT) trong nước đến khi thu được dung dịch bão hòa, lọc.

Dung dịch amoni oxalat 5 %

Hòa tan 5 g *amoni oxalat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch amoni oxalat 4 %

Hòa tan 4 g *amoni oxalat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch amoni oxalat 3,5 %

Hòa tan 3,5 g *amoni oxalat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch amoni oxalat 2,5 %

Hòa tan 2,5 g *amoni oxalat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Amoni phosphat

Diamoni hydrophosphat; *Diamoni hydrogen orthophosphat*

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 = 132,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột tinh thể hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Amoni persulfat

$(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8 = 228,20$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột tinh thể màu trắng. Dễ tan trong nước.

Dung dịch amoni persulfat 20 %

Hòa tan 20 g *amoni persulfat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch amoni persulfat 10 %

Hòa tan 10 g *amoni persulfat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Amoni pyrolidin dithiocarbamat

Amoni tetramethylen dithiocarbamat

$\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2 = 164,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột tinh thể màu trắng đến vàng nhạt. Hơi tan trong nước, rất khó tan trong ethanol.

Bảo quản trong lọ có chứa miếng amoni carbonat để ở trong túi vải mút-xơ-lin.

Dung dịch amoni pyrolidin dithiocarbamat

Hòa tan 1 g *amoni pyrolidin dithiocarbamat* (TT) với nước vừa đủ 100 ml. Ngay trước khi dùng, rửa 3 lần, mỗi lần với 25 ml 4-methylpentan-2-on (TT).

Amoni sulfamat

$\text{NH}_2\text{SO}_3\text{NH}_4 = 114,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu trắng hay tinh thể không màu, hút ẩm. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol.

Điểm chảy: Khoảng 130 °C.

Amoni sulfat

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 132,14$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu hay bột cốm màu trắng. Rất dễ tan trong nước.

Amoni sulfocyanid

Amoni thiocyanat

$\text{NH}_4\text{SCN} = 76,12$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu trắng. Rất dễ tan trong nước và ethanol, tan trong methanol và aceton, hầu như không tan trong cloroform và ethyl acetat.

Dung dịch amoni sulfocyanid (Dung dịch amoni sulfocyanid 1 M)

Hòa tan 7,6 g *amoni sulfocyanid* (TT) trong 50 ml nước và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch amoni cobalthiocyanat

Hòa tan 37,5 g *cobalt* (II) *nitrat* (TT) và 150 g *amoni thiocyanat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Pha trước khi dùng.

Amoni vanadat*Amoni meta vanadat* $\text{NH}_4\text{VO}_3 = 116,98$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột tinh thể màu trắng đến hơi vàng. Khó tan trong nước, tan trong dung dịch amoniac loãng.

Dung dịch amoni metavanadat (Dung dịch amoni vanadat)Hòa tan 5 g *amoni vanadat (TT)* trong hỗn hợp gồm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 5 N (TT)* và 90 ml nước bằng cách đun nóng. Để nguội, lọc qua bông thủy tinh nếu cần.**Dung dịch amoni vanadat 1 % trong acid sulfuric**Hòa tan 0,1 g *amoni vanadat (TT)* trong 10 ml *acid sulfuric (TT)*.**Amoni ac** (Amoni ac đậm đặc) ρ *Amoni ac 13,5 M* $\text{NH}_3 = 17,03$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng trong, không màu, mùi mạnh đặc biệt.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,91.

Hàm lượng NH_3 : Khoảng 25 % (kl/kl).**Dung dịch amoni ac xM**Pha loãng 75x ml *amoni ac (TT)* với nước thành 1000 ml.**Dung dịch amoni ac loãng** (Dung dịch amoni ac 10 %)Lấy 440 ml *amoni ac (TT)* hòa vào nước và thêm nước vừa đủ 1000 ml.**Dung dịch amoni ac 5 %**Lấy 500 ml *dung dịch amoni ac loãng (TT)* hòa vào nước và thêm nước vừa đủ 1000 ml.**Dung dịch amoni ac trong methanol**Pha như các dung dịch amoni ac khác, nhưng thay nước bằng *methanol (TT)*.**Dung dịch kiểm tra amoni ac**Lấy 5 g *natri hydroxyd (TT)* thêm 2 ml *amoni ac đậm đặc (TT)*, thêm nước vừa đủ 100 ml.**Amoni ac 18 M** $\text{NH}_3 = 17,03$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng trong, không màu, mùi mạnh đặc biệt.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,88.

Hàm lượng NH_3 : Khoảng 35 % (kl/kl).**Anhydrid acetic** $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O} = 102,09$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng trong, không màu, mùi hắc. Dung dịch trong nước bị thủy phân nhanh và tỏa mùi acid acetic.

Điểm sôi: 136 - 142 °C.

Hàm lượng $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$: Không được ít hơn 97,0 %.**Anhydrid maleic***Furan-2,5-dione* $\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_3 = 98,06$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm chảy: Khoảng 52 °C.

Cần không tan trong toluen: Không quá 5 % (acid maleic).

Anhydrid propionic $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3 = 130,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng trong, không màu, mùi hăng. Tan trong ethanol và ether.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,01 g/ml.

Điểm sôi: Khoảng 167 °C.

Thuốc thử anhydrid propionicHòa tan 1 g *acid toluensulfonic (TT)* trong 30 ml *acid acetic băng (TT)*, thêm 5 ml *anhydrid propionic (TT)*, để yên ít nhất 15 phút.

Sử dụng trong 24h.

Anilin $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2 = 93,13$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng sánh, không màu hay màu vàng nhạt.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,02.

Điểm sôi: Khoảng 183 °C đến 186 °C.

Bảo quản tránh ánh sáng.

Dung dịch anilin 2,5 %Hòa tan 2,5 g *anilin (TT)* trong 80 ml nước và thêm nước vừa đủ 100 ml.**Dung dịch anilin trong cyclohexan**Hòa tan 0,9 g *anilin (TT)* trong *cyclohexan (TT)* vừa đủ 100 ml.**Anisaldehyd***4-Methoxybenzaldehyd* $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2 = 136,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng sánh, không màu đến vàng nhạt, có mùi thơm.

Điểm sôi: Khoảng 248 °C.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,125 g/ml.

Dung dịch anisaldehydTrộn đều theo thứ tự 0,5 ml *anisaldehyd (TT)*, 10 ml *acid acetic băng (TT)*, 85 ml *methanol (TT)* và 5 ml *acid sulfuric (TT)*.**Dung dịch anisaldehyd trong ethanol**Thêm 90 ml *ethanol 96 % (TT)* vào 10 ml *anisaldehyd (TT)*, trộn đều. Thêm 10 ml *acid sulfuric (TT)* và trộn đều.**Dung dịch anisaldehyd trong acid sulfuric**Trộn 10 ml *acid sulfuric (TT)* vào 5 ml *anisaldehyd (TT)*.

Antimony trichlorid*Stibi trichlorid* $\text{SbCl}_3 = 228,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể hay vảy không màu, bốc khói trong không khí ẩm. Tan trong ethanol, acetone, ether và benzen.

Dung dịch antimony trichloridRửa nhanh 30 g *antimony trichlorid* (TT) 2 lần, mỗi lần với 15 ml *cloroform không có ethanol* (TT). Hòa tan ngay các tinh thể đã rửa trong 100 ml *cloroform không có ethanol* (TT) bằng cách làm nóng nhẹ.

Bảo quản với vài gam natri sulfat khan.

Thuốc thử antimony trichlorid (TT)

Chuẩn bị 2 dung dịch gốc bằng cách sau:

Dung dịch A: Hòa tan 110 g *antimony trichlorid* (TT) trong 400 ml *ethylen clorid* (TT), thêm 2 g *nhôm oxyd khan* (TT), trộn đều, lọc qua phễu xốp vào bình định mức 500 ml, pha loãng thành 500 ml với *ethylen clorid* (TT). Độ hấp thụ của dung dịch thu được (Phụ lục 4.1), đo trong cốc dày 2 cm, không được lớn hơn 0,07, dùng *ethylen clorid* (TT) làm mẫu trắng.Dung dịch B: Trộn 100 ml *acetyl clorid* (TT) đã cất lại, không màu với 400 ml *ethylen clorid* (TT) và bảo quản ở chỗ lạnh.

Trộn đều 90 ml dung dịch A với 10 ml dung dịch B. Bảo quản trong chai thủy tinh màu nút mài. Dùng trong vòng 7 ngày. Không dùng thuốc thử, nếu có màu.

Arsen trioxyd $\text{As}_2\text{O}_3 = 197,84$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh màu trắng. Khó tan trong nước, tan trong nước sôi.

Dung dịch natri arsenit 0,1 MHòa tan 4,946 g *arsen trioxyd* (TT) trong hỗn hợp gồm 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M* (TT) và 20 ml *nước*, pha loãng thành 400 ml với *nước*, thêm *dung dịch acid hydrocloric 2 M* (TT) đến khi trung tính với giấy quỳ. Hòa tan 2 g *natri hydrocarbonat* (TT) trong dung dịch này và thêm *nước* vừa đủ 500 ml.**Barbiton***Barbital; 5,5-diethylbarbituric acid.* $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3 = 184,2$

Điểm chảy: Khoảng 190 °C.

Barbiton natri*Barbital natri; natri 5,5-diethylbarbiturat.* $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_2\text{NaO}_3 = 206,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bari clorid $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 244,28$.

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu. Dễ tan trong nước.

Dung dịch bari clorid 5 %Hòa tan 5 g *bari clorid* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml.**Dung dịch bari clorid 0,5 M**Hòa tan 12,2 g *bari clorid* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml.**Dung dịch bari clorid 0,25 M (6,1 %)**Hòa tan 6,1 g *bari clorid* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml.**Bari hydroxyd** $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O} = 315,5$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu. Tan trong nước.

Dung dịch bari hydroxydHòa tan 4,73 g *bari hydroxyd* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml.**Bạc nitrat** $\text{AgNO}_3 = 169,87$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu hay màu trắng, chuyển thành màu xám đen khi để ngoài ánh sáng.

Dung dịch bạc nitrat 5 %Hòa tan 5 g *bạc nitrat* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Bảo quản trong lọ thủy tinh màu, có nút mài.

Dung dịch bạc nitrat 4,25 %Hòa tan 4,25 g *bạc nitrat* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Bảo quản trong chai lọ thủy tinh màu, có nút mài.

Dung dịch bạc nitrat 4 %Hòa tan 4 g *bạc nitrat* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Bảo quản trong lọ thủy tinh màu, có nút mài.

Dung dịch bạc nitrat 2 %Hòa tan 2 g *bạc nitrat* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Bảo quản trong lọ thủy tinh màu, có nút mài.

Bạc oxyd $\text{Ag}_2\text{O} = 231,7$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột màu đen nâu. Hầu như không tan trong nước và ethanol, dễ tan trong acid nitric loãng và amoniac.

Bảo quản tránh ánh sáng.

Benzen $\text{C}_6\text{H}_6 = 78,11$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, dễ bắt lửa.

Điểm sôi: Khoảng 80 °C.

Benzil*Diphenylethandion* $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_2 = 210,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm chảy: 95 °C.

Benzophenon

 $C_{13}H_{10}O = 182,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm chảy: Khoảng 48 °C.

1,4-Benzoquinon

Cyclohexa-2,5-dien-1,4-dion
 $C_6H_4O_2 = 108,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 98,0 % $C_6H_4O_2$.

Bột kết tinh vàng, có mùi đặc trưng. Ít tan trong nước, tan trong ethanol và ether.

Benzoyl clorid

 $C_7H_5ClO = 140,6$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, gây chảy nước mắt, bốc khói trong không khí ẩm.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,21.

Điểm sôi: Khoảng 197 °C.

Bismuth nitrat base

Bismuth oxynitrat; Bismuth subnitrat
 $4[Bi(NO_3)(OH)_2] \cdot Bi(OH)_3 = 1462$

Muối base chứa khoảng 80 % Bi_2O_3 .

Bột màu trắng, nặng, hơi hút ẩm. Tan trong acid hydrocloric, acid nitric, acid sulfuric loãng và acid acetic, hầu như không tan trong nước và ethanol.

Boron triclорid

 $BCl_3 = 117,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Khí không màu, phản ứng rất mạnh với nước. Tồn tại ở dạng dung dịch trong các dung môi thích hợp (2-chloroethanol, dicloromethan, hexan, heptan, methanol).

Điểm sôi: Khoảng 12,6 °C.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,420.

Boron trifluorid

 $BF_3 = 67,8$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Khí không màu.

Dung dịch boron trifluorid (Dung dịch boron trifluorid trong methanol)

Dung dịch chứa khoảng 14 % BF_3 trong *methanol* (TT).

Brom

 $Br_2 = 159,8$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng nặng, bốc khói, màu đỏ nâu, ăn da mạnh.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 3,1.

Nước brom (Dung dịch bão hòa brom) ✕

Điều chế bằng cách thỉnh thoảng lắc 3 ml *brom* (TT) với 100 ml *nước* trong 24 giờ, rồi để yên cho tách lớp.

Bảo quản trong lọ thủy tinh màu nút mài, tránh ánh sáng và ở trên một lượng dư *brom* (TT).

Dung dịch brom

Hòa tan 30 g *brom* (TT) và 30 g *kali bromid* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch brom trong acid acetic

Hòa tan 100 g *kali acetat* (TT) trong *acid acetic* băng (TT), thêm 4 ml *brom* (TT) và *acid acetic* băng (TT) vừa đủ 1000 ml.

Bromelain

Cô đặc các enzym thủy phân protein được lấy từ *Ananas comosus* Merr.

Bột màu vàng xám.

Phải đáp ứng phép thử sau:

Hoạt tính: 1 g chế phẩm làm giải phóng khoảng 1,2 g amino nitrogen từ một dung dịch gelatin chuẩn trong 20 phút, ở nhiệt độ 45 °C và pH 4,5.

Butan-2-on

Methyl ethyl keton; Ethyl methyl keton
 $C_4H_8O = 72,11$

Dùng loại tinh khiết sắc ký.

Chất lỏng không màu, dễ bắt lửa, có mùi đặc trưng.

Điểm sôi: Khoảng 79 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,81.

Butanol

n-Butanol, Butan-1-ol
 $CH_3(CH_2)_2CH_2OH = 74,12$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng trong, không màu.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,81.

Điểm sôi: 116 đến 119 °C.

tert-Butanol

Còn tert- butyl; 2-Methyl-2-propanol; 2-Methyl-propan- 2-ol
 $C_4H_{10}O = 74,1$

Sử dụng loại tinh khiết phân tích.

Chất rắn hay chất lỏng sánh không màu, mùi đặc trưng. Hòa trộn với ethanol và ether.

Điểm đông đặc: Khoảng 25 °C.

Điểm sôi: Khoảng 82 °C.

Khối lượng riêng ở 26 °C: Khoảng 0,78 g/ml.

Butyl acetat

 $CH_3COO(CH_2)_3CH_3 = 116,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, dễ bắt lửa, có mùi hoa quả mạnh.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,88.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,395.

Butylamin

n-Butylamin
 $C_4H_{11}N = 73,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu, có mùi amoniac.

Điểm sôi: Khoảng 78 °C.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,401.

Cất và dùng trong vòng 1 tháng.

Butyl hydroxytoluen

BHT; 2,6-Di-*tert*-butyl-*p*-cresol

$C_{15}H_{24}O = 220,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu trắng hay tinh thể không màu.

Điểm chảy: Khoảng 70 °C.

Calcein

Bột dạng hạt màu trắng hoặc vàng nhạt, không mùi.

Không tan trong nước hoặc các dung môi tự nhiên khác; dễ tan trong dung dịch hydroxyd kiềm.

Hỗn hợp chỉ thị màu calcein

Trộn đều 0,1 g *calcein* (TT) và 10 g *kali clorid* (TT) bằng cách nghiền.

Calci carbonat

$CaCO_3 = 100,09$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Calci clorid

$CaCl_2 \cdot 2H_2O = 147,0$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch calci clorid 10 %

Hòa tan 10 g *calci clorid* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch calci clorid

Hòa tan 7,35 g *calci clorid* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Calci clorid khan

$CaCl_2 = 110,99$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Cốm trắng, dễ chảy nước. Rất dễ tan trong nước và ethanol.

Hàm lượng $CaCl_2$ không được ít hơn 98,0 %, tính theo chế phẩm đã sấy khô.

Mất khối lượng do làm khô: Không được quá 5,0 %, khi làm khô đến khối lượng không đổi ở 200 °C.

Calci clorid tetrahydrat

$CaCl_2 \cdot 4H_2O = 183,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không quá 0,05 phần triệu Fe.

Calci hydroxyd

$Ca(OH)_2 = 74,09$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột màu trắng, tan gần như hoàn toàn trong 600 phần nước.

Dung dịch bão hòa calci hydroxyd

Lắc kỹ 10 g *calci hydroxyd* (TT) với 1000 ml nước và để yên đến khi dung dịch trong.

Calci lactat

Calci lactat pentahydrat

$C_6H_{10}CaO_6 \cdot 5H_2O = 218,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Calci sulfat

$CaSO_4 \cdot 1/2 H_2O = 145,15$

Bột màu trắng, khi trộn 1 phần với 1/2 phần nước, bột bị rắn lại thành khối cứng và xốp.

Dung dịch calci sulfat

Lắc 5 g *calci sulfat* (TT) với 100 ml nước trong 1 giờ và lọc.

Carbomer

Polymer liên kết ngang của acid acrylic, chứa 56 % đến 68 % nhóm acid carboxylic (COOH) sau khi sấy ở 80 °C trong 1 giờ.

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Khối lượng phân tử tương đối trung bình khoảng 3×10^6 .

Carbon disulfid

$CS_2 = 76,14$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, dễ bay hơi, dễ bắt lửa, mùi khó chịu.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,26 g/ml.

Điểm sôi: Khoảng 46 °C.

Carbon tetracolorid

Tetrachloromethan

$CCl_4 = 153,82$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, có mùi đặc trưng.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,59.

Điểm sôi: Từ 76 °C đến 77 °C.

Carbophenothion

O,O-Diethyl *S*-[(4-clorophenyl)thio]methylphosphorodithioat

$C_{11}H_{16}ClO_2PS_3 = 342,9$

Dùng loại tinh khiết thích hợp cho phân tích dư lượng thuốc trừ sâu. Có thể sử dụng loại nguyên liệu đôi chiếu (10 ng/μl trong iso-octan).

Tỷ trọng ở 25 °C: Khoảng 1,27.

Celulose dùng cho sắc ký

Bột trắng mịn, đồng nhất, kích thước hạt trung bình nhỏ hơn 30 μm.

Chuẩn bị bản mỏng: Trộn 15 g chế phẩm với 100 ml nước và khuấy đều trong 60 giây. Tráng lớp dày 0,1 mm lên bản sạch và để khô ngoài không khí.

Ceri amoni sulfat

$Ce(SO_4)_2 \cdot 2(NH_4)_2SO_4 \cdot 2H_2O = 632,6$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh hay tinh thể màu vàng cam. Tan chậm trong nước, tan nhanh hơn khi có mặt acid vô cơ.

Ceri nitrat

$Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O = 434,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể không màu hoặc màu vàng nhạt. Tan trong nước, ethanol và acetone.

Ceri sulfat

$\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} = 404,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể hoặc bột kết tinh màu vàng hay vàng cam. Rất ít tan trong nước lạnh, tan chậm trong các dung dịch acid vô cơ loãng lạnh, tan nhanh hơn trong các dung môi này khi đun nóng.

Dung dịch ceri sulfat 1 % trong acid sulfuric 10 %

Hòa tan 10 g *ceri sulfat* (TT) trong 850 ml *dung dịch acid sulfuric 10 %* (TT) bằng cách đun nóng nhẹ. Để nguội, thêm *dung dịch acid sulfuric 10 %* (TT) cho vừa đủ 1000 ml.

Chì acetat

$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O} = 379,35$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Bông tẩm chì acetat ✕

Ngâm bông hút nước trong hỗn hợp 10 thể tích *dung dịch chì acetat 9,5 %* (TT) và 1 thể tích *dung dịch acid acetic 2 M* (TT). Loại bỏ dung dịch thừa bằng cách thấm bằng giấy lọc nhưng không làm khô kiệt khối bông. Để khô bông ở nhiệt độ phòng. Bảo quản trong bao bì kín.

Giấy tẩm chì acetat ✕

Nhúng giấy lọc vào hỗn hợp gồm 10 thể tích *dung dịch chì acetat 9,5 %* (TT) và 1 thể tích *acid acetic 2 M* (TT), để ráo rồi hong khô, tránh ánh sáng. Cắt thành từng băng dài khoảng 5 cm, rộng 6 mm.

Bảo quản trong lọ thủy tinh nút mài, tránh ánh sáng, tránh acid hay kiềm.

Dung dịch chì acetat 20 %

Hòa tan 20 g *chì acetat* (TT) trong nước, thêm *acid acetic* (TT) tới khi được dung dịch trong, thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chì acetat 9,5 %

Hòa tan 9,5 g *chì acetat* (TT) trong nước không có carbon dioxyd (TT) vừa đủ 100 ml.

Chì nitrat

$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2 = 331,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh màu trắng hay tinh thể không màu. Dễ tan trong nước.

Dung dịch chì nitrat

Hòa tan 3,3 g *chì nitrat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Chromotrop II B

Chromotrop 2B

$\text{C}_{16}\text{H}_9\text{N}_3\text{Na}_2\text{O}_{10}\text{S}_2 = 513,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu nâu đỏ.

Dung dịch chromotrop II B

Hòa tan 0,005 g *chromotrop II B* (TT) trong 100 ml *acid sulfuric* (TT).

Clor

$\text{Cl}_2 = 70,91$

Nước clor (Dung dịch bão hòa clor)

Điều chế bằng cách cho luồng khí clor chạy qua nước đến bão hòa.

Đóng đầy trong chai lọ thủy tinh màu nút mài, để chỗ mát, tránh ánh sáng.

Dung dịch không bảo quản được lâu.

Cloral hydrat

$\text{C}_2\text{H}_3\text{Cl}_3\text{O}_2 = 165,40$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể không màu, mùi đặc biệt, dễ hút ẩm.

Điểm chảy: Khoảng 55 °C.

Dung dịch cloral hydrat

Hòa tan 50 g *cloral hydrat* (TT) trong hỗn hợp gồm 15 ml nước và 10 ml *glycerin* (TT).

Cloramin B

Muối natri của N-clorobenzen sulfonamid

$\text{C}_6\text{H}_5\text{ClINaO}_2\text{S} = 213,6$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Cloramin T

Muối natri của N-clorotoluen-p-sulfonamid

$\text{C}_7\text{H}_7\text{ClINaO}_2\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O} = 281,7$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Dung dịch cloramin T 2 %

Hòa tan 2 g *cloramin T* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Pha trước khi dùng.

Dung dịch cloramin T 0,02 %

Hòa tan 0,02 g *cloramin T* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Pha trước khi dùng.

1-Clorobutan

Butyl clorid

$\text{C}_4\text{H}_9\text{Cl} = 92,6$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng trong, không màu, dễ bay hơi.

Điểm sôi: Khoảng 78 °C.

Khối lượng riêng: Khoảng 0,886 g/ml.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,402.

1-Cloro-2,4-dinitrobenzen

$\text{C}_6\text{H}_3\text{ClN}_2\text{O}_4 = 202,6$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể màu vàng nhạt.

Điểm chảy: Khoảng 51 °C.

2-Chloro-4-nitroanilin

$C_6H_5ClN_2O_2 = 172,6$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh màu vàng đến nâu.

Điểm chảy: Khoảng 107 °C.

Bảo quản tránh ánh sáng.

Cloroform

Tricloromethan

$CHCl_3 = 119,38$

Dùng loại tinh khiết phân tích chứa 0,4 % đến 1,0 % (kl/kl) ethanol.

Chất lỏng trong, không màu, mùi đặc biệt.

Điểm sôi: Khoảng 60 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: 1,475 đến 1,481.

Cloroform không có ethanol

Rửa *cloroform* (TT) với nước nhiều lần, làm khan bằng *natri sulfat khan* (TT), rồi cất lại.

Xác định khối lượng riêng (Phụ lục 6.5), không được thấp hơn 1,49 g/ml.

Cloroform không có ethanol chỉ điều chế trước khi dùng.

Cloroform khan

Cho 100 g *calci clorid khan* (TT) vào 1000 ml *cloroform* (TT), lắc mạnh, để yên 24 giờ. Gạn chất lỏng vào bình khô có nút mài.

Cloroform dùng cho phổ hồng ngoại

Dùng loại tinh khiết quang phổ.

Cloroform được ổn định với amylen

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 99,8 % $CHCl_3$ được xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2) và phải đáp ứng các yêu cầu sau:

Nước: Không quá 0,05 %.

Cẩn sau khi bay hơi: Không quá 0,001 %.

Độ truyền quang: Không ít hơn 50 % ở 255 nm, 80 % ở 260 nm và 98 % ở 300 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Cobalt acetat

$(CH_3CO_2)_2Co.4H_2O = 249,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể màu đỏ tím. Tan trong nước, ethanol và acid loãng.

Dung dịch cobalt acetat 0,2 % trong methanol

Hòa tan 0,2 g *cobalt acetat* (TT) trong *methanol* (TT) vừa đủ 100 ml.

Cobalt clorid

$CoCl_2.6H_2O = 237,93$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh màu đỏ hay tinh thể đỏ đậm. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Dung dịch cobalt clorid 2 %

Hòa tan 2 g *cobalt clorid* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch cobalt clorid 1 % trong methanol

Hòa tan 1 g *cobalt clorid* (TT) trong *methanol* (TT) vừa đủ 100 ml.

Cobalt nitrat

$Co(NO_3)_2.6H_2O = 291,04$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể nhỏ màu đỏ ngọc. Rất dễ tan trong nước.

Dung dịch cobalt nitrat

Hòa tan 5 g *cobalt nitrat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch cobalt nitrat 10 %

Hòa tan 10 g *cobalt nitrat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Copolymer styren – divinylbenzen

Dùng loại tinh khiết sắc ký khí.

Các hạt polymer liên kết ngang, cứng, xốp. Có nhiều loại với kích thước hạt khác nhau.

Cresol

o-Cresol

$C_7H_8O = 108,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Khối rắn tinh thể không màu hay có màu rất nhạt, hoặc chất lỏng chậm đông, có mùi phenol - hắc ín.

Điểm đông đặc: Không dưới 30,5 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,05.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: 1,540 đến 1,550.

Điểm sôi: Khoảng 190 °C.

Bảo quản tránh ánh sáng, ẩm và oxygen. Cất lại trước khi dùng.

Crom (VI) oxyd

Crom trioxyd

$CrO_3 = 99,99$.

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể hình kim hay cốm màu đỏ nâu thẫm, dễ chảy nước.

Curcumin

$C_{21}H_{20}O_6 = 368,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu nâu vàng. Tan trong acid acetic băng, thực tế không tan trong nước và ether.

Điểm chảy: Khoảng 183 °C.

Cyanogen bromid (Dung dịch)

Thêm từng giọt *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 M* (TT) vào *nước brom* (TT) trong điều kiện làm lạnh cho tới khi mất màu.

Pha ngay trước khi dùng.

Cyclohexan

$C_6H_{12} = 84,16$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu.

Điểm sôi: Khoảng 81 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,78.

Cyclohexan dùng cho phương pháp quang phổ

Độ truyền quang: Không được nhỏ hơn 45 % ở 220 nm; 70 % ở 235 nm; 90 % ở 240 nm và 98 % ở 250 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Cyclohexan (TT)

Sử dụng loại cyclohexan dùng cho phương pháp quang phổ (TT) và đáp ứng phép thử sau:

Huỳnh quang: Dưới bức xạ ở bước sóng 365 nm, huỳnh quang đo được ở bước sóng 460 nm, trong cốc đo dày 1 cm, không được lớn hơn huỳnh quang của dung dịch chứa 0,002 µg quinin trong 1 ml dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT).

Dibenzosuberone

Dibenzo[a,d]cyclohepta-1,4-dien-3-on; 10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5-on

$C_{15}H_{12}O = 208,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm chảy: Khoảng 34 °C.

Dibutyl ether

$C_8H_{18}O = 130,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu, dễ bắt lửa.

Điểm sôi: Khoảng 140 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,77.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,399.

Chú ý: Cần thận khi cất hoặc làm bay hơi dibutyl ether, vì có thể giải phóng peroxyd.

Dibutyl phtalat

Di-n-butyl phtalat

$C_{16}H_{22}O_4 = 278,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu hay có màu rất nhạt.

Tỷ trọng ở 20 °C: 1,043 đến 1,048.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: 1,490 đến 1,495.

Dịch dạ dày giả

Hòa tan 2,0 g natri clorid (TT) và 3,2 g pepsin (TT) trong nước, thêm 80 ml dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT), thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dicloromethan

Methylen clorid

$CH_2Cl_2 = 84,93$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng dễ bay hơi, ngửi thấy ngọt.

Điểm sôi: Khoảng 40 °C.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,32 g/ml.

2,6-Diclorophenol-indophenol natri

$C_{12}H_6Cl_2NNaO_2 = 290,08$.

Là muối natri của 2,6 dicloro-N-(4-hydroxyphenyl)-1,4-benzoquinon monoimin.

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột màu lục thẫm. Dung dịch nước có màu lam đậm, chuyển sang màu hồng khi acid hóa.

Dung dịch 2,6 diclorophenol - indophenol

Hòa tan 0,1 g 2,6 diclorophenol - indophenol natri (TT) với 100 ml nước ấm và lọc.

Dung dịch chỉ dùng trong vòng 3 ngày.

2,6- Dicloroquinon clorimid

$C_6H_2Cl_3NO = 210,45$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu vàng hay da cam. Không tan trong nước, tan trong ethanol và các dung dịch kiềm loãng.

Điểm chảy: Khoảng 66 °C.

Dung dịch 2,6-dicloroquinon clorimid

Hòa tan 0,02 g 2,6-dicloroquinon clorimid (TT) trong 50 ml n-butanol (TT) hay alcol isopropylic (TT).

Bảo quản trong lọ thủy tinh màu, ở chỗ mát.

Không dùng dung dịch khi đã có màu hồng.

2,5- Diethoxytetrahydrofuran

$C_8H_{16}O_3 = 160,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa hỗn hợp đồng phân cis và trans.

Chất lỏng không màu hay vàng nhạt.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,98.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,418.

N,N-Diethylanilin

$C_{10}H_{15}N = 149,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng màu vàng nhạt, có mùi amoniac.

Điểm sôi: Khoảng 217 °C.

Khối lượng riêng: Khoảng 0,93 g/ml.

Diethylamin

$(C_2H_5)_2NH = 73,14$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, dễ bay hơi.

Điểm sôi: Khoảng 55 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,71.

1,3-Dihydroxynaphthalen

Naphthalen-1,3-diol; Naphthoresorcin

$C_{10}H_8O_2 = 160,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể không màu. Dễ tan trong nước và ethanol.

Điểm chảy: Khoảng 125 °C.

Di-isopropyl ether

Isopropyl ether

$C_6H_{14}O = 102,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu, có mùi đặc trưng.

Điểm sôi: Từ 67 đến 69 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: Từ 0,723 đến 0,728.

Chú ý: Chỉ cất di-isopropyl ether khi đạt phép thử nghiệm sau:

Peroxyd: Cho 8 ml *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)* vào ống nghiệm nút mài dung tích 12 ml, đường kính khoảng 1,5 cm, đổ đầy ống nghiệm với di-isopropyl ether cần thử. Đậy nút, lắc mạnh và để yên tránh ánh sáng trong 30 phút. Không được có màu tạo thành.

Bảo quản tránh ánh sáng. Trên nhãn phải ghi tên và nồng độ chất bảo quản đưa vào.

Dikali hydrophosphat

$K_2HPO_4 = 174,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh trắng, dễ hút ẩm. Rất dễ tan trong nước, ít tan trong ethanol.

Dimethylacetamid

$C_4H_9NO = 87,12$

Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không ít hơn 99,5 % C_4H_9NO .

Chất lỏng không màu.

Điểm sôi: Khoảng 165 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,94.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,437.

Dimethylanilin

N,N-dimethylanilin

$C_8H_{11}N = 121,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, chuyển màu trong quá trình bảo quản. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong cồn và trong ether.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,568.

Không ít hơn 95 % chưng cất được ở 192 °C đến 194 °C.

2,6-Dimethylanilin

2,6-Xylidin

$C_8H_{11}N = 121,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,98.

p-Dimethylaminobenzaldehyd

4-Dimethylaminobenzaldehyd

$(CH_3)_2NC_6H_4CHO = 149,19$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh màu trắng hay vàng nhạt. Tan trong ethanol, aceton, cloroform, ether và acid acetic, tan ít trong nước.

Điểm chảy: Khoảng 74 °C.

Dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd 2 % trong ethanol.

Hòa tan 2 g *p*-dimethylaminobenzaldehyd (TT) trong ethanol 96 % (TT) vừa đủ 100 ml.

Dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd (TT₁)

Hòa tan 0,2 g *p*-dimethylaminobenzaldehyd (TT) trong 20 ml ethanol 96 % (TT), thêm 0,5 ml acid hydro-

cloric (TT). Lắc dung dịch với than hoạt (TT), lọc. Dung dịch không được đậm hơn màu của dung dịch iod pha như sau: Lấy 10 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*, thêm 0,6 g kali iodid (TT) và nước vừa đủ 100 ml. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được với nước thành 100 ml.

Pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd (TT₂)

Hòa tan 0,2 g *p*-dimethylaminobenzaldehyd (TT) trong hỗn hợp gồm 4,5 ml nước và 5,5 ml acid hydrocloric (TT).

Pha ngay trước khi dùng.

4-Dimethylaminocinnamaldehyd

$C_{11}H_{13}NO = 175,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột hay tinh thể màu cam tới nâu cam.

Điểm chảy: Khoảng 138 °C.

Dung dịch 4-dimethylaminocinnamaldehyd

Hòa tan 2,0 g 4-dimethylaminocinnamaldehyd (TT) trong hỗn hợp gồm 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 7 N (TT)* và 100 ml ethanol (TT).

Bảo quản chỗ mát. Pha loãng gấp bốn với ethanol (TT) ngay trước khi dùng.

Dimethyl carbonat

$C_3H_6O_3 = 90,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu, không mùi hoặc hơi có mùi khó chịu.

Điểm sôi: Khoảng 90 °C.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,368.

Tỷ trọng ở 17 °C: Khoảng 1,065.

Dimethyldecylamin

$C_{12}H_{27}N = 185,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không ít hơn 98,0 % (kl/kl) $C_{12}H_{27}N$.

Điểm sôi: Khoảng 234 °C.

1,3-Dimethyl-imidazolidinon

DMI

$C_5H_{10}N_2O = 114,2$.

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,472.

Điểm sôi: Khoảng 224 °C.

Dimethylformamid

$HCON(CH_3)_2 = 73,10$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, mùi đặc biệt, hòa lẫn với nước và ethanol.

Điểm sôi: Khoảng 153 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,95.

Nước: Không được quá 0,1 % (Phụ lục 10.3).

Dimethyl sulfoxid $C_2H_6OS = 78,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, không mùi hoặc hơi có mùi khó chịu.

Điểm sôi: Khoảng 189 °C.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,479.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,10.

Phải đáp ứng yêu cầu sau:

Nước: Không quá 1,0 % (Phụ lục 10.3).

Dimethyl sulfoxid dùng cho phương pháp quang phổ

Độ truyền quang: Không nhỏ hơn 10 % ở 262 nm, 35 % ở 270 nm, 70 % ở 290 nm và 98 % ở 340 nm và những bước sóng cao hơn, dùng nước làm mẫu trắng.

Dinatri hydrophosphat $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O = 358,17$.

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể trong suốt, không màu. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch dinatri hydrophosphat 12 %Hòa tan 12 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.**Dung dịch dinatri hydrophosphat 4 %**Hòa tan 4 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.**Dinatri hydrophosphat khan** $Na_2HPO_4 = 142,0$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch dinatri hydrophosphat 0,235 MHòa tan 33,36 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong 1000 ml nước, điều chỉnh pH tới 10,3 đến 10,5 với *dung dịch natri hydroxyd 2 N (TT)*.**Dinitrobenzoyl clorid***3,5-Dinitrobenzoyl clorid* $C_7H_3ClN_2O_5 = 230,6$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể hình kim màu vàng, phân hủy trong không khí ẩm.

Điểm chảy: Khoảng 68 °C.

2,4-Dinitrophenylhydrazin $C_6H_3(NO_2)_2NHNH_2 = 198,14$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể màu cam đỏ. Ít tan trong ethanol, rất khó tan trong nước.

Điểm chảy: Khoảng 203 °C.

Dung dịch 2,4-dinitrophenylhydrazin trong acid hydrochloricThêm 4 ml *acid hydrochloric (TT)* vào 0,10 g *2,4-dinitrophenylhydrazin (TT)*, rồi thêm 20 ml nước nóng để hòa tan.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch dinitrophenylhydrazin-aceto-hydrochloricHòa tan 0,2 g *2,4-dinitrophenylhydrazin (TT)* trong 20 ml *methanol (TT)* và thêm 80 ml hỗn hợp đồng thể tích *acid acetic 30 % (TT)* và *dung dịch acid hydrochloric 25 % (TT)*.

Dung dịch chỉ pha ngay trước khi dùng.

Diethyl natri sulfosuccinat*Natri docusat* $C_{20}H_{37}NaO_7S = 444,6$ Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa 90 % $C_{20}H_{37}NaO_7S$.

Các mảnh sáp màu trắng. Tan trong nước, methanol và aceton. Dễ thủy phân trong các dung dịch kiềm.

Dioxan*1,4-Dioxan* $C_4H_8O_2 = 88,11$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, có mùi ether.

Điểm đông đặc: 9 °C đến 11 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,03.

Nước: Không được quá 0,5 %.

Chú ý: Chỉ cất 1,4-dioxan khi đạt phép thử sau:Peroxyd: Cho 8 ml *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)* vào ống nghiệm nút mài dung tích 12 ml, đường kính 1,5 cm, đổ đầy ống nghiệm với dioxan cần thử. Đậy nút, lắc mạnh và để yên tránh ánh sáng trong 30 phút. Không được có màu xuất hiện.**Dung dịch dioxan**Pha loãng 50 ml *dung dịch gốc dioxan (TT)* thành 100 ml với nước (0,5 mg/ml).**Dung dịch dioxan (TT₁)**Pha loãng 10,0 ml *dung dịch dioxan (TT)* thành 50 ml với nước (0,1 mg/ml).**Dung dịch gốc dioxan**Hòa tan 1 g *dioxan (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Pha loãng 5 ml dung dịch thu được thành 50 ml bằng nước (1,0 mg/ml).

Diphenylamin $C_{12}H_{11}N = 169,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu trắng, có mùi đặc biệt. Ít tan trong nước, tan trong ethanol.

Điểm chảy: Khoảng 55 °C.

Dung dịch diphenylaminHòa tan 0,5 g *diphenylamin (TT)* trong hỗn hợp gồm 100 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* và 20 ml nước.**Diphenylcarbazon***1,5-Diphenylcarbazon* $C_{13}H_{12}N_4O = 240,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu cam. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong ethanol.

Điểm chảy: Khoảng 157 °C cùng với phân hủy.

Thuốc thử diphenylcarbazon - thủy ngân

Hòa tan 0,1 g *diphenylcarbazon* (TT) trong *ethanol* (TT) vừa đủ 50 ml (dung dịch A).

Hòa tan 1 g *thủy ngân* (II) *clorid* (TT) trong *ethanol* (TT) vừa đủ 50 ml (dung dịch B).

Trộn đều đồng thể tích dung dịch A và dung dịch B.

Dithizon

1,5-Diphenylthiocarbazon

$C_{13}H_{12}N_4S = 256,3$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột màu xanh đen, nâu đen hay đen. Thực tế không tan trong nước, tan trong *ethanol*.

Dung dịch dithizon 0,025 % trong ethanol

Hòa tan 25 mg *dithizon* (TT) trong *ethanol* (TT) vừa đủ 100 ml.

Divanadi pentoxyl

Vanadi oxyd

$V_2O_5 = 181,9$

Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không ít hơn 98,5 % V_2O_5 .

Bột tinh thể màu vàng cam hay tinh thể màu nâu đỏ. Khó tan trong nước, tan trong dung dịch acid và dung dịch kiềm.

Phải đáp ứng phép thử sau:

Độ nhạy với hydrogen peroxyl: Đun nóng 1 g *divanadi pentoxyl* (TT) với 10 ml *acid sulfuric* (TT) trong 30 phút, để nguội, bổ sung *acid sulfuric* (TT) cho đủ 10 ml. Pha loãng cẩn thận 1 ml dung dịch trong thành 50 ml bằng nước. Lấy 0,5 ml dung dịch thu được, thêm 0,1 ml *dung dịch hydrogen peroxyl* 0,01 %. Xuất hiện màu cam, thấy rõ khi so sánh với mẫu trắng gồm 0,5 ml dung dịch trên và 0,1 ml nước. Thêm tiếp 0,4 ml *dung dịch hydrogen peroxyl* 0,01 %, màu chuyển sang vàng cam.

Dung dịch divanadi pentoxyl trong acid sulfuric

Hòa tan 0,2 g *divanadi pentoxyl* (TT) trong 4 ml *acid sulfuric* (TT) và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Đỏ rutheni

$H_4Cl_6N_{14}O_2Ru_3.4H_2O = 858$

Dùng loại phẩm màu siêu mịn.

Bột màu đỏ nâu. Tan trong nước.

Dung dịch đỏ rutheni

Hòa tan 0,08 g *đỏ rutheni* (TT) trong *dung dịch chỉ acetat* 9,5 % (TT) vừa đủ 100 ml.

Đồng acetat

$Cu(CH_3COO)_2.H_2O = 199,65$.

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể màu lục thẫm. Tan trong nước và *ethanol*, ít tan trong ether và glycerin.

Dung dịch đồng edetat

Lấy 2 ml *dung dịch đồng acetat* 2 %, thêm 2 ml *dung dịch trilon B* 0,1 M (CĐ) và pha loãng với nước thành 50 ml.

Dung dịch đồng acetat 5 %

Hòa tan 5 g *đồng acetat* (TT) trong nước đã acid hóa bằng vài mililit *acid acetic loãng* (TT) và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Đồng phôi

$Cu = 63,54$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Đồng sulfat

$CuSO_4.5H_2O = 249,69$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể màu xanh lam. Rất dễ tan trong nước, ít tan trong *ethanol*.

Dung dịch đồng sulfat 10 %

Hòa tan 10 g *đồng sulfat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đồng sulfat 5 %

Hòa tan 5 g *đồng sulfat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đồng sulfat 4 %

Hòa tan 4 g *đồng sulfat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đồng sulfat 0,5 M (12,5 %)

Hòa tan 12,5 g *đồng sulfat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đồng sulfat 0,01 M

Hòa tan 2,5 g *đồng sulfat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đồng - citrat

Hòa tan 2,5 g *đồng sulfat* (TT), 5 g *acid citric* (TT) và 14,4 g *natri carbonat khan* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Đồng sulfat khan

$CuSO_4 = 159,6$

Dùng loại tinh khiết phân tích, hoặc điều chế bằng cách sấy *đồng sulfat* (TT) ở 230 °C đến khối lượng không đổi.

Ethan-1,2-diol

Ethylen glycol

$HOCH_2-CH_2OH = 62,07$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng sánh, không màu.

Tỷ trọng ở 20 °C: 1,113 đến 1,115.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: 1,430 đến 1,433.

Điểm sôi: Khoảng 196 °C.

Dung dịch ethan - 1,2 - diol 50 %

Hòa tan 50 g *ethan-1,2-diol* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Ethanol*Ethanol tuyệt đối* $C_2H_5OH = 46,07$ Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 99,5 % (tt/tt) C_2H_5OH .

Chất lỏng trong, không màu, dễ hút nước, có mùi đặc biệt.

Điểm sôi: 78 °C đến 79 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: 0,791 đến 0,794.

Ethanol 96 % $C_2H_5OH = 46,07$ Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa 95,1 % đến 96,9 % (tt/tt) C_2H_5OH .

Chất lỏng không màu.

Khối lượng riêng: Khoảng 0,81 g/ml.

Ethanol 96 % không có aldehyd

Trộn 1200 ml *ethanol 96 % (TT)* với 5 ml *dung dịch bạc nitrat 40 %* và 10 ml *dung dịch kali hydroxyd 50 %* đã làm lạnh. Lắc mạnh, để yên vài ngày và lọc. Cát dịch lọc ngay trước khi sử dụng.

Ether*Ether ethylic; Diethylether* $C_4H_{10}O = 74,12$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, trong suốt, dễ bắt lửa, dễ bay hơi, mùi đặc biệt.

Tỷ trọng ở 20 °C: 0,713 đến 0,715.

Điểm sôi: 34 °C đến 35 °C.

Chú ý: Chỉ cất ether khi đạt phép thử sau:

Peroxyd: Cho 8 ml *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)* vào ống nghiệm nút mài dung tích 12 ml, đường kính khoảng 1,5 cm, đổ đầy ống nghiệm với ether cần thử. Đậy nút, lắc mạnh và để yên tránh ánh sáng trong 30 phút. Không được có màu tạo thành.

Bảo quản tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 15 °C.

Trên nhãn phải ghi tên và nồng độ chất bảo quản đưa vào.

Ether không có peroxyd

Dung dịch sắt (II) sulfat: Hòa tan 30 g *sắt (II) sulfat (TT)* trong hỗn hợp gồm 55 ml *nước* và 3 ml *acid sulfuric (TT)*.

Lắc 1000 ml *ether (TT)* với 20 ml *dung dịch sắt (II) sulfat*. Tiếp tục lắc cho tới lúc không còn xuất hiện màu xanh lam, khi lắc lượng nhỏ mẫu thử với đồng thể tích *dung dịch kali iodid 2 % (TT)* và 0,1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*.

Ether dầu hỏa

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng trong, không màu, dễ bay hơi, rất dễ bắt lửa, chứa hỗn hợp các dãy hydrocarbon parafin bậc thấp, chia thành các phân đoạn sau:

Khoảng sôi 30 °C đến 40 °C; khối lượng riêng: Khoảng 0,63 g/ml.

Khoảng sôi 40 °C đến 60 °C; khối lượng riêng: Khoảng 0,64 g/ml.

Khoảng sôi 50 °C đến 70 °C; khối lượng riêng: Khoảng 0,66 g/ml.

Khoảng sôi 60 °C đến 80 °C; khối lượng riêng: Khoảng 0,67 g/ml.

Khoảng sôi 80 °C đến 100 °C; khối lượng riêng: Khoảng 0,70 g/ml.

Khoảng sôi 100 °C đến 120 °C; khối lượng riêng: Khoảng 0,72 g/ml.

Khoảng sôi 120 °C đến 160 °C; khối lượng riêng: Khoảng 0,75 g/ml.

p-Ethoxycrysoidin hydroclorid*4-p-Ethoxyphenylazo-m-phenylendiamin hydroclorid* $C_{14}H_{16}N_4O.HCl = 292,8$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu đỏ. Tan trong nước và ethanol.

Dung dịch p-ethoxycrysoidin hydroclorid 0,1 % trong ethanol

Hòa tan 0,1 g *p-ethoxycrysoidin hydroclorid (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch phải đạt phép thử độ nhạy với brom: Thêm 0,05 ml *dung dịch brom 0,1 N (TT)* vào hỗn hợp 0,05 ml *dung dịch p-ethoxycrysoidin hydroclorid 0,1 % trong ethanol (TT)* và 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Màu chuyển từ đỏ sang vàng nhạt trong vòng 2 phút.

Ethyl acetat $CH_3COOC_2H_5 = 88,11$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, mùi thơm hoa quả.

Tan trong nước, hòa lẫn với ethanol.

Tỷ trọng ở 20 °C: 0,901 đến 0,904.

Điểm sôi: 76 °C đến 78 °C.

Ethyl cyanoacetat $C_5H_7NO_2 = 113,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu hoặc gần như không màu. Tan trong nước, hòa lẫn được với ethanol và ether.

Điểm sôi: 205 °C đến 209 °C kèm phân hủy.

Ethylen clorid*1,2-Dicloroethan* $C_2H_4Cl_2 = 98,96$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, có mùi giống mùi cloroform.

Điểm sôi: Khoảng 83 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,25.

Lượng cất được trong khoảng 82 °C đến 84 °C không ít hơn 95 %.

Ethylen diamin*1,2-Diaminoethan* $C_2H_8N_2 = 60, 10$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm sôi: Khoảng 116 °C.

Khối lượng riêng: Khoảng 0,90 g/ml.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,457.

Ethylen oxyd*Oxiran* $C_2H_4O = 44,05$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Khí không màu.

Điểm hóa lỏng: Khoảng 12 °C.

Dung dịch gốc ethylen oxyd (Dung dịch đậm đặc ethylen oxyd)*Toàn bộ quá trình pha chế phải được tiến hành trong tủ hút. Người pha chế phải mang găng tay polyethylen và mặt nạ bảo vệ thích hợp. Bảo quản các dung dịch trong bình kín, ở nhiệt độ từ 4 °C đến 8 °C. Tiến hành định lượng 3 lần.*

Cho chậm luồng khí ethylen oxyd (TT) vào một ống nghiệm khô, sạch, đã được làm lạnh chứa hỗn hợp gồm 1 phần *natri clorid* (TT) và 3 phần nước đá nghiền, để tạo thành lớp đông đặc bám trên mặt trong thành ống nghiệm. Dùng bơm thủy tinh đã được làm lạnh ở -10 °C, tiêm khoảng 300 µl (ứng với khoảng 0,25 g) ethylen oxyd (TT) lỏng vào 50 ml *macrogol 200* (TT₁). Xác định lượng ethylen oxyd đã hấp thụ bằng cách cân trước và sau khi cho hấp thụ (M_{eo}). Pha loãng thành 100 ml với *macrogol 200* (TT₁). Trộn kỹ trước khi dùng.

Xác định nồng độ chính xác của ethylen oxyd theo phương pháp sau:

Lấy 10 ml hỗn dịch *magnesi clorid* (TT) 50 % trong *ethanol* (TT) vào bình nón nút mài, thêm 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N* trong *ethanol* (TT), đậy nắp, lắc mạnh để thu được dung dịch bão hòa và để cân bằng qua đêm. Cân 5 g dung dịch cân định lượng vào bình đã chuẩn bị ở trên, để yên 30 phút. Chuẩn độ bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N* trong *ethanol* (CD), xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành một mẫu trắng, dùng *macrogol 200* (TT₁) thay thế cho dung dịch cân định lượng.

Nồng độ ethylen oxyd (mg/g) trong dung dịch được tính bằng công thức:

$$4,404(V_0 - V_1) / m$$

Trong đó:

 V_0 và V_1 là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N* trong *ethanol* (CD) đã dùng cho mẫu trắng và mẫu thử; m là lượng mẫu thử đã cân để định lượng (g).**Dung dịch ethylen oxyd (TT₂)**Cân chính xác một lượng *dung dịch gốc ethylen oxyd* (TT) đã được làm lạnh ứng với 2,5 mg ethylen oxyd vào

một bình lạnh, pha loãng thành 50,0 g với *macrogol 200* (TT₁). Trộn kỹ, pha loãng 2,5 g dung dịch này thành 25 ml với *macrogol 200* (TT₁) (5 µg ethylen oxyd/g). Dung dịch pha trước khi dùng.

Dung dịch ethylen oxyd (TT₂)

Cân 1 g *dung dịch gốc ethylen oxyd* (TT) lạnh (tương ứng với 2,5 mg ethylen oxyd) vào bình lạnh có chứa 40 ml *macrogol 200* (TT₁) lạnh. Trộn, xác định khối lượng chính xác và pha loãng để thu được dung dịch chứa 50 µg ethylen oxyd trong 1 g dung dịch. Cân 10 g dung dịch vào bình chứa khoảng 30 ml nước, trộn và pha loãng thành 50 ml với nước (10 µg ethylen oxyd/ml). Dung dịch pha chế ngay trước khi dùng.

Dung dịch ethylen oxyd (TT₃)

Pha loãng 10 ml *dung dịch ethylen oxyd* (TT₂) thành 50 ml với nước (2 µg ethylen oxyd/ml). Dung dịch pha ngay trước khi dùng.

Fibrin đỏ congo

Ngâm qua đêm 1,5 g fibrin trong 50 ml *dung dịch đỏ congo 2 %* (kl/tt) trong *ethanol 90 %*. Lọc, rửa fibrin với nước và bảo quản trong *ether* (TT).

1-Fluoro-2,4-dinitrobenzen*2,4-Dinitrofluorobenzen* $C_6H_3FN_2O_4 = 186,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng, chất rắn hay tinh thể màu vàng nhạt với hơi làm cay mắt.

Điểm chảy: Khoảng 29 °C.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,48 g/ml.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,569.

Formaldehyd*Formaldehyd; Dung dịch formol; Formalin* $CH_2O = 30,03$ Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa 34,0 % đến 37,0 % CH_2O .

Chất lỏng trong, không màu hay gần như không màu, mùi hăng đặc biệt.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,08 g/ml.

Bảo quản trong lọ kín, ở nhiệt độ 15 °C đến 25 °C.

Dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric

Hòa tan 0,2 g *formaldehyd* (TT) trong 10 ml *acid sulfuric* (TT).

Thuốc thử Stiasny

Dung dịch gồm *formaldehyd - acid hydrocloric đậm đặc* (2 : 1), thuốc thử pha khi dùng.

Formamid $CH_3NO = 45,0$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng sánh, không màu. Hòa trộn được với nước và ethanol.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,13 g/ml.

Fuchsin*Fuchsin base*

Hỗn hợp rosanilin hydroclorid ($C_{20}H_{19}N_3.HCl = 337,9$) và para-rosanilin hydroclorid ($C_{19}H_{17}N_3.HCl = 323,8$).

Bột màu đỏ đậm hay tinh thể xanh lục có ánh kim.

Tan trong nước và ethanol.

Bảo quản tránh ánh sáng.

Dung dịch fuchsin đã khử màu

Hòa tan 0,1 g *fuchsin base* (TT) trong 60 ml nước, thêm 10 ml *dung dịch natri sulfat khan 10 %* (kl/tt). Thêm từ từ 2 ml *acid hydrocloric* (TT), lắc liên tục, pha loãng thành 100 ml với nước. Để yên tránh ánh sáng ít nhất 12 giờ. Lắc với 0,2 g đến 0,3 g *than hoạt* (TT) để khử màu và lọc ngay lập tức. Nếu dung dịch bị đục, lọc trước khi sử dụng. Trong quá trình bảo quản, nếu dung dịch có màu tím, khử màu bằng *than hoạt* (TT).

Dung dịch phải đạt phép thử độ nhạy với formaldehyd: Lấy 1,0 ml dung dịch, thêm 1,0 ml nước và 0,1 ml *ethanol không có aldehyd* (TT). Thêm 0,2 ml *dung dịch formaldehyd 0,01 %*, phải xuất hiện màu hồng nhạt trong vòng 5 phút.

Bảo quản tránh ánh sáng.

Gelatin

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Gelatin thủy phân

Hòa tan 50 g *gelatin* (TT) trong 1000 ml nước. Hấp trong nồi hấp bão hòa hơi nước ở 121 °C trong 90 phút và làm đông khô.

Thuốc thử gelatin - natri clorid

Hòa tan 1 g *gelatin* (TT) và 10 g *natri clorid* (TT) trong 100 ml nước bằng cách đun nóng trên cách thủy ở nhiệt độ dưới 60 °C. Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Glycerin*Propan-1,2,3 triol*

$C_3H_8O_3 = 92,10$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng sánh, không màu.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,26 g/ml.

Glycerin 85 %

Glycerin (TT) có chứa 12,0 % đến 16,0 % (kl/kl) nước.

Khối lượng riêng: 1,22 đến 1,24 g/ml.

Dung dịch glyoxal

Dùng loại tinh khiết hóa học chứa khoảng 40 % (kl/kl) glyoxal ($C_2H_2O_2$).

Định lượng: Lấy 1 g vào bình nón nút mài, thêm 20 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid 7 %* (TT) và 50 ml nước. Để yên 30 phút và thêm 1 ml *dung dịch hỗn hợp đỏ methyl* (TT) và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (CĐ) đến khi màu chuyển sang xanh lục. Song song tiến hành một mẫu trắng. 1 ml *dung dịch*

natri hydroxyd 1 M (CĐ) tương đương với 29,02 mg $C_2H_2O_2$.

Guanidin hydroclorid

$CH_5N_3.HCl = 95,5$.

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột tinh thể trắng. Dễ tan trong nước và ethanol.

Nhiệt độ nóng chảy: Khoảng 178 °C đến 189 °C.

Haemoglobin

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Hàm lượng sắt: Từ 0,2 % đến 0,3 %.

Hàm lượng nitrogen: Từ 15 % đến 16 %.

Mất khối lượng do làm khô: Không quá 2 %.

Tro sulfat: Không quá 1,5 %.

Dung dịch haemoglobin

Hòa tan 2 g *haemoglobin* (TT) trong 75 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,03 M* (TT), điều chỉnh pH của dung dịch tới 1,5 đến 1,7 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M* (TT), pha loãng thành 100 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,03 M* (TT) và thêm 25 mg *thiomersal* (TT).

Dung dịch pha trong ngày, bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, chỉnh pH đến 1,6 trước khi dùng.

Heli dùng cho sắc ký khí

He = 4,003

Dùng loại tinh khiết hóa học đóng ống dùng cho phòng thí nghiệm có chứa không ít hơn 99,5 % (tt/tt) He.

Heptan*n-Heptan*

$C_7H_{16} = 100,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu, dễ cháy.

Tỷ trọng ở 20 °C: 0,683 đến 0,686.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,387 đến 1,388.

Hexamethyldisilazan

$C_6H_{19}NSi_2 = 161,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu.

Điểm sôi: Khoảng 125 °C

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,78

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,408.

Bảo quản trong đồ chứa kín.

Hexan

$C_6H_{14} = 86,2$

Chất lỏng không màu, dễ cháy.

Tỷ trọng ở 20 °C: Từ 0,659 đến 0,663.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Từ 1,375 đến 1,376.

Không ít hơn 95 % được cất ở 67 °C đến 69 °C.

Hexan dùng cho phương pháp quang phổ

Độ truyền quang: không ít hơn 97 % trong khoảng 260 nm đến 420 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

n-Hexan

$C_6H_{14} = 86,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 99 % đồng phân tinh khiết.

Chất lỏng không màu, dễ cháy.

Điểm sôi: Khoảng 68 °C.

Khối lượng riêng: Khoảng 0,66 g/ml.

Hexylamin

$C_6H_{15}N = 101,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu.

Điểm sôi: 127 °C đến 131 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,766.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,418.

Hydrazin sulfat

$N_2H_4 \cdot H_2SO_4 = 130,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu. Dễ tan trong nước nóng, ít tan trong nước và ethanol.

Hydridantín

2,2'-Dihydroxy-2,2'-bi-indan-1,1',3,3'-tetraon dihydrat

$C_{18}H_{10}O_6 \cdot 2H_2O = 358,3$.

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm chảy: Khoảng 258 °C.

Hydrogen

$H_2 = 2,02$

Dùng loại tinh khiết hóa học đóng ống dùng cho phòng thí nghiệm, chứa không ít hơn 99,95 % (tt/tt) H_2 .

Hydrogen peroxyd

Nước oxy già

$H_2O_2 = 34,02$

Dung dịch hydrogen peroxyd 200 tt

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa khoảng 60 % (kl/tt) H_2O_2 .

Chất lỏng không màu.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,18 g/ml.

Dung dịch hydrogen peroxyd 100 tt (Dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc)

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa khoảng 30 % (kl/tt) H_2O_2 .

Chất lỏng không màu.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,10 g/ml.

Dung dịch hydrogen peroxyd 20 tt

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa khoảng 6 % (kl/tt) H_2O_2 hay pha loãng dung dịch hydrogen peroxyd 100 tt (TT) với 4 thể tích nước.

Chất lỏng không màu.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,02 g/ml.

Dung dịch hydrogen peroxyd 10 tt (Dung dịch hydrogen peroxyd loãng)

Pha loãng dung dịch hydrogen peroxyd 20 tt (TT) với đồng thể tích nước.

Hydrogen sulfid

$H_2S = 34,08$

Dùng loại cho phòng thí nghiệm, hay điều chế bằng cách cho sắt sulfid tác dụng với acid hydrocloric (TT) đã pha loãng gấp đôi với nước và rửa khí thu được bằng cách cho chạy qua nước.

Khí độc, không màu, có mùi đặc trưng, khó chịu.

Hydrogen sulfid chứa không ít hơn 99,7 % (tt/tt) H_2S .

Dung dịch hydrogen sulfid

Dung dịch bão hòa khí hydrogen sulfid trong nước mới điều chế.

Dung dịch này chứa khoảng 0,45 % (kl/tt) H_2S ở 20 °C.

Bảo quản trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Dung dịch không bảo quản được lâu.

Hydroquinon

Quinol; Benzen-1,4-diol

$C_6H_6O_2 = 110,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể không màu hay gần như không màu, bị sẫm màu khi tiếp xúc với không khí và ánh sáng. Tan trong nước, ethanol và ether.

Điểm chảy: Khoảng 173 °C.

Dung dịch hydroquinon 1 % trong ethanol

Hòa tan 1,0 g hydroquinon (TT) trong ethanol 96 % (TT) vừa đủ 100 ml.

Hydroxylamin hydroclorid

$NH_2OH \cdot HCl = 69,49$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh trắng. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 20 %

Hòa tan 20 g hydroxylamin hydroclorid (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 25 %

Hòa tan 25 g hydroxylamin hydroclorid (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 0,5 N

Hòa tan 6,95 g hydroxylamin hydroclorid (TT) trong nước vừa đủ 200 ml.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 7 %

Hòa tan 7 g hydroxylamin hydroclorid (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 0,5 %

Hòa tan 0,5 g *hydroxylamin hydroclorid (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid trong ethanol

Hòa tan 3,5 g *hydroxylamin hydroclorid (TT)* trong 95 ml *ethanol 60 %*, thêm 0,5 ml *dung dịch methyl da cam 0,2 % trong ethanol 60 % (TT)* và thêm *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 % (CĐ)* đến khi xuất hiện màu vàng hoàn toàn, pha loãng thành 100 ml với *ethanol 60 %*.

Dung dịch hydroxylamin trong kiềm

Trước khi dùng, trộn đều đồng thể tích *dung dịch hydroxylamin hydroclorid 13,9 %* với *dung dịch natri hydroxyd 15 % (TT)*.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid

Hòa tan 3,5 g *hydroxylamin hydroclorid (TT)* trong *ethanol 60 %* vừa đủ 100 ml.

Hydroxyquinolin

8-Hydroxyquinolin; Quinolin-8-ol

$C_9H_7NO = 145,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh trắng hay trắng ngà, có mùi phenol, dễ bị sẫm màu khi tiếp xúc với ánh sáng. Rất dễ tan trong ethanol, aceton, cloroform và acid vô cơ, hầu như không tan trong nước.

Điểm chảy: Khoảng 74 °C.

Dung dịch hydroxyquinolin 0,5 % trong cloroform

Hòa tan 0,5 g *hydroxyquinolin (TT)* trong *cloroform (TT)* vừa đủ 100 ml. Chỉ pha trước khi dùng.

Imidazol

Glyoxalin

$C_3H_4N_2 = 68,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh trắng. Dễ tan trong nước.

Điểm chảy: Khoảng 90 °C.

Imidazol kết tinh lại

Lấy 25 g *imidazol (TT)*, kết tinh lại 2 lần với 100 ml *toluen (TT)*, làm lạnh trong nước đá, khuấy liên tục, rửa với *ether (TT)*, làm khô trên silica gel khan, ở nhiệt độ phòng và áp suất 2 kPa.

Phải đáp ứng yêu cầu sau:

Độ hấp thụ ánh sáng: Độ hấp thụ của dung dịch 8 % (kl/tt) ở 325 nm không quá 0,10 (Phụ lục 4.1).

Thuốc thử imidazol thủy ngân

Hòa tan 8,25 g *imidazol kết tinh lại (TT)* trong 60 ml nước, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 5 M (TT)*. Dùng máy khuấy từ, khuấy và thêm từng giọt 10 ml *dung dịch thủy ngân (II) clorid 0,27 %*. Nếu dung dịch có tủa, pha lại dung dịch khác và nhỏ dung dịch thủy ngân (II) clorid chậm hơn. Điều chỉnh pH đến $6,8 \pm 0,05$ bằng *dung dịch acid hydrocloric 5 M (TT)* (khoảng 4 ml) và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Iod

$I_2 = 253,8$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu đen tía có ánh kim loại. Tan trong ethanol, ether và trong dung dịch kali iodid, tan rất ít trong nước.

Dung dịch iod-iodid (Thuốc thử Bouchardat)

Hòa tan 2 g *iod (TT)* và 4 g *kali iodid (TT)* trong 10 ml nước, lắc, để yên cho tan, rồi thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch iod 5 % trong ethanol

Hòa tan 5 g *iod (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Iod bromid

$IBr = 206,8$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu đen nâu hay đen lam.

Điểm chảy: Khoảng 40 °C.

Điểm sôi: Khoảng 116 °C.

Bảo quản ở nơi lạnh, tránh ánh sáng.

Dung dịch iod bromid

Hòa tan 2 g *iod bromid (TT)* trong *acid acetic băng (TT)* vừa đủ 100 ml.

Iod pentoxyd

Iod pentoxyd kết tinh lại

$I_2O_5 = 333,8$.

Dùng loại tinh khiết hóa học được kết tinh lại theo phương pháp sau: Đun dung dịch bão hòa iod pentoxyd trong *acid nitric (TT)* trong 1 giờ, rồi để yên trong 24 giờ. Loại bỏ chất lỏng phía trên, làm khô các tinh thể thu được ban đầu bằng luồng không khí ở nhiệt độ phòng, sau sấy trên *phospho pentoxyd (TT)* ở áp suất không quá 5,2 mmHg (0,7 kPa).

Bột kết tinh màu trắng, dễ hút ẩm, chứa không ít hơn 99,5 % I_2O_5 .

Định lượng: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 50 ml nước, thêm 3,0 g *kali iodid (TT)* và 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Định lượng iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (CĐ)*, dùng 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.

1 ml dung dịch natri thiosulfat 0,1 M tương đương với 2,782 mg I_2O_5 .

Bảo quản trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Iod triclорid

$ICl_3 = 233,3$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu cam đỏ.

Dung dịch iod monoclорid

Dung dịch A: Hòa tan 0,8 g *iod triclорid (TT)* trong 20 ml *acid acetic băng (TT)*.

Dung dịch B: Hòa tan 0,9 g *iod (TT)* trong 30 ml *dicloromethan (TT)*.

Trộn dung dịch A và dung dịch B, pha loãng với *acid acetic băng (TT)* vừa đủ 100 ml.

Bảo quản dung dịch trong bình nút kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 15 °C.

Isopropanol

Propan-2-ol

$C_3H_8O = 60,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, có mùi đặc biệt. Hòa tan trong nước và ethanol.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,785.

Điểm sôi: 81 °C đến 83 °C.

Isopropanol (TT₁)

Propan-2-ol (TT₁)

Propan-2-ol thỏa mãn các yêu cầu sau:

Chỉ số khúc xạ: Khoảng 1,378.

Độ truyền quang: Không nhỏ hơn 25 % ở 210 nm, 55 % ở 220 nm, 75 % ở 230 nm, 95 % ở 250 nm và 98 % ở 260 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Nước: Không quá 0,05 % (kl/kl) (Phụ lục 10.3), dùng 10 g.

Kali acetat

$C_2H_3O_2K = 98,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột hay tinh thể màu trắng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước và ethanol.

Kali antimony tartrat

Kali antimony oxyde (+)-tartrat

$KSbO.C_4H_4O_6.1/2H_2O = 333,9$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Kali antimonat (V)

Kali pyroantimonat

$KSbO_3.3H_2O = 262,9$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch kali antimonat (V)

Hòa tan 2 g *kali antimonat (TT)* trong 95 ml nước nóng, làm nguội nhanh, thêm 50 ml *dung dịch kali hydroxyd 50 % (TT)* và 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 N (TT)*. Để yên trong 24 giờ, lọc và pha loãng với nước thành 150 ml.

Kali biphtalat

Kali hydrophthalat

$C_8H_5O_4K = 204,23$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể trắng. Tan trong nước, ít tan trong ethanol.

Kali bromat

$KBrO_3 = 167,01$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột cốm hay tinh thể màu trắng, tan trong nước, ít tan trong ethanol.

Kali bromid

$KBr = 119,01$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Kali bromid tinh khiết IR

Viên nén dày 2 mm, được làm từ *kali bromid (TT)* mới sấy khô ở 250 °C trong 1 giờ, phải cho đường nền phẳng trong khoảng từ 4000 cm^{-1} đến 620 cm^{-1} , không được có cực đại với độ hấp thụ lớn hơn 0,02 so với đường nền, trừ cực đại của nước ở 3440 cm^{-1} và 1630 cm^{-1} .

Dung dịch kali bromid 10 %

Hòa tan 10 g *kali bromid (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali bromid 0,0015 %

Hòa tan 0,15 g *kali bromid (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml. Lấy 1 ml dung dịch này pha loãng với nước thành 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Kali carbonat

$K_2CO_3.1,5H_2O = 165,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể hay cốm màu trắng. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Kali carbonat khan

$K_2CO_3 = 138,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột cốm màu trắng, dễ hút ẩm. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Kali clorat

Muối Berthollet

$KClO_3 = 122,55$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột, cốm hay tinh thể màu trắng. Rất dễ tan trong nước sôi, tan trong nước, hầu như không tan trong ethanol.

Kali clorid

$KCl = 74,55$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch kali clorid 10 %

Hòa tan 10 g *kali clorid (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Kali cromat

$K_2CrO_4 = 194,20$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu vàng. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch kali cromat 5 %

Hòa tan 5 g *kali cromat (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Kali cyanid

$KCN = 65,12$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước, ít tan trong ethanol.

Dung dịch kali cyanid 10 %

Hòa tan 10 g *kali cyanid* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Kali dicromat

$K_2Cr_2O_7 = 294,20$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu da cam. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch kali dicromat 5 %

Hòa tan 5 g *kali dicromat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali dicromat 10,6 %

Hòa tan 10,6 g *kali dicromat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Kali dihydro citrat

$C_6H_7KO_7 = 230,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Kali dihydrophosphat

$KH_2PO_4 = 136,09$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Kali fericyanid

$K_3Fe(CN)_6 = 329,26$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu đỏ. Dễ tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch kali fericyanid 5 %

Hòa tan 5 g *kali fericyanid* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali fericyanid 10 %

Hòa tan 10 g *kali fericyanid* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali fericyanid 1 %

Hòa tan 1 g *kali fericyanid* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Pha trước khi dùng.

Dung dịch kali fericyanid loãng

Thêm 0,5 ml *dung dịch sắt (III) clorid 5 %* (TT) và 40 ml nước vào 10 ml *dung dịch kali fericyanid 1 %* (TT), lắc đều.

Pha trước khi dùng.

Kali ferocyanid

$K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O = 422,41$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể trong, màu vàng. Dễ tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch kali ferocyanid

Hòa tan 5,3 g *kali ferocyanid* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali ferocyanid 10 %

Hòa tan 10 g *kali ferocyanid* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Kali hydrocarbonat

Kali bicarbonat

$KHCO_3 = 100,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu trong suốt. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol.

Dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol

Hòa tan 0,1 g *kali hydrocarbonat* (TT) trong 0,4 ml nước bằng cách đun nóng trên cách thủy. Thêm 25 ml *methanol* (TT) và khuấy, để trên cách thủy cho đến khi tan hoàn toàn.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Kali hydrophthalat

$C_8H_5KO_4 = 204,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Kali hydrosulfat

Kali bisulfat

$KHSO_4 = 136,17$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu, trong suốt. Dễ tan trong nước, cho dung dịch có tính acid mạnh.

Kali hydroxyd

$KOH = 56,11$

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 85,0 % lượng kiềm tính theo KOH và không quá 2,0 % K_2CO_3 .

Hạt, que hay phiến màu trắng, dễ chảy nước.

Dung dịch kali hydroxyd 30 %

Hòa tan 300 g *kali hydroxyd* (TT) trong nước, để nguội, thêm nước vừa đủ 1000 ml. Để lắng và gạn lấy phần nước trong.

Dung dịch kali hydroxyd 5 %

Hòa tan 50 g *kali hydroxyd* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 0,5 N

Hòa tan 34 g *kali hydroxyd* (TT) trong nước không có carbon dioxid (TT) vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 3 %

Hòa tan 3 g *kali hydroxyd* (TT) trong nước không có carbon dioxid (TT) vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 1 % trong ethanol

Hòa tan 10 g *kali hydroxyd* (TT) trong ethanol 96 % (TT) vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 2 M trong ethanol

Hòa tan 12 g *kali hydroxyd* (TT) trong 10 ml nước, thêm ethanol 96 % (TT) vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 1,5 M trong ethanol

Hòa tan 84 g kali hydroxyd (TT) trong ethanol 96 % (TT) vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol

Hòa tan 28 g kali hydroxyd (TT) trong ethanol 96 % (TT) vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 0,1 M trong ethanol

Hòa tan 5,6 g kali hydroxyd (TT) trong ethanol 96 % (TT) vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydroxyd trong ethanol (TT)

Hòa tan 3 g kali hydroxyd (TT) trong 5 ml nước và pha loãng thành 100 ml bằng ethanol không có aldehyd (TT). Gạn lấy dung dịch trong, dung dịch gần như không màu. Pha loãng 1 thể tích dung dịch này với 5 thể tích ethanol không có aldehyd (TT).

Dung dịch kali hydroxyd 0,1 M trong methanol

Hòa tan 5,6 g kali hydroxyd (TT) trong methanol (TT) vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 10 % trong methanol

Hòa tan 100 g kali hydroxyd (TT) trong methanol (TT) vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch kali hydroxyd 3 % trong methanol

Hòa tan 3 g kali hydroxyd (TT) trong methanol (TT) vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Kali iodat

$KIO_3 = 214,0$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh màu trắng. Tan trong nước và acid sulfuric loãng, không tan trong ethanol.

Dung dịch kali iodat 5 %

Hòa tan 5 g kali iodat (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Kali iodid

$KI = 166,01$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch bão hòa kali iodid

Dung dịch bão hòa kali iodid trong nước không có carbon dioxyd (TT), có chứa một vài tinh thể không tan.

Bảo quản tránh ánh sáng và gạn bỏ nếu không đáp ứng phép thử sau:

Thêm 0,1 ml dung dịch hồ tinh bột (TT) vào 0,5 ml thuốc thử trong 30 ml hỗn hợp gồm 3 thể tích dung dịch acid acetic 6 M (TT) và 2 thể tích cloroform (TT). Nếu xuất hiện màu xanh lam, màu phải mất khi cho thêm không quá 0,05 ml dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (CD).

Dung dịch kali iodid 50 %

Hòa tan 50 g kali iodid (TT) trong nước mới đun sôi để nguội vừa đủ 100 ml. Dung dịch không được có màu.

Dung dịch kali iodid

Hòa tan 16,6 g kali iodid (TT) trong nước mới đun sôi để nguội vừa đủ 100 ml. Dung dịch không được có màu.

Dung dịch kali iodid 10 % (Dung dịch kali iodid loãng)

Hòa tan 10 g kali iodid (TT) trong nước mới đun sôi để nguội vừa đủ 100 ml. Dung dịch không được có màu.

Dung dịch kali iodid 2 %

Hòa tan 2 g kali iodid (TT) trong nước mới đun sôi để nguội vừa đủ 100 ml. Dung dịch không được có màu.

Dung dịch kali iodid - hồ tinh bột

Hòa tan 0,75 g kali iodid (TT) trong 100 ml nước, đun sôi. Thêm 35 ml dung dịch chứa 0,5 g tinh bột (TT), khuấy liên tục. Đun sôi 2 phút và để nguội.

Độ nhạy với iod: Lấy 15 ml thuốc thử, thêm 0,05 ml acid acetic băng (TT) và 0,3 ml dung dịch iod 0,0005 M, phải xuất hiện màu xanh lam.

Dung dịch kali tetraiodomercurat kiểm

Hòa tan 11 g kali iodid (TT) và 15 g thủy ngân (II) iodid (TT) trong nước vừa đủ 100 ml. Trước khi dùng, trộn đều đồng thể tích dung dịch trên với dung dịch natri hydroxyd 25 % (TT).

Kali periodat

Kali meta-periodat

$KIO_4 = 230,0$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh màu trắng hay tinh thể không màu. Tan trong nước nóng, tan ít trong nước.

Dung dịch kali periodat 0,1 %

Hòa tan 1 g kali periodat (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Kali permanganat

$KMnO_4 = 158,04$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch kali permanganat 5 %

Hòa tan 5 g kali permanganat (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali permanganat trong acid phosphoric

Hòa tan 3 g kali permanganat (TT) trong hỗn hợp 15 ml acid phosphoric (TT) và 70 ml nước, thêm nước vừa đủ 100 ml.

Kali sulfat

Dikali sulfat

$K_2SO_4 = 174,27$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch kali sulfat 0,001 M

Hòa tan 0,174 g kali sulfat (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Kali sulfocyanid

Kali thiocyanat

KSCN = 97,18

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu, dễ chảy nước. Tan trong nước và ethanol.

Dung dịch kali sulfocyanid 10 %

Hòa tan 10 g kali sulfocyanid (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Kali tetraoxalat

Kali trihydro dioxalat

$C_4H_3KO_8 \cdot 2H_2O = 254,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh màu trắng.

Kẽm

Zn = 65,37.

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không được ít hơn 99,5 % Zn.

Hạt hay cốm màu trắng bạc. Tan trong acid loãng kèm giải phóng khí hydrogen.

Phải đáp ứng phép thử sau:

Arsen: Không quá 0,2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Lấy 5,0 g, thêm 15 ml acid hydrocloric (TT), 0,1 ml dung dịch thiếc (II) clorid AsT (TT) và 25 ml nước.

Tiến hành theo phương pháp A.

Kẽm bột

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không được ít hơn 90,0 % Zn.

Bột mịn, xanh xám nhạt. Tan trong acid loãng kèm giải phóng khí hydrogen.

Kẽm clorid

$ZnCl_2 = 136,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột cốm màu trắng hay gần như trắng. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Dung dịch kẽm clorid-iod

Hòa tan 20 g kẽm clorid (TT) và 6,5 g kali iodid (TT) trong 10,5 ml nước. Thêm 0,5 g iod (TT) và lắc 15 phút, lọc nếu cần. Bảo quản tránh ánh sáng.

Kẽm không có arsen

Ngâm một lượng kẽm (TT) trong dung dịch acid cloroplatinic 0,005 %. Để yên 10 phút, rửa với nước, gạn kiệt và làm khô ngay lập tức.

Phải đáp ứng các phép thử sau:

Arsen (Phụ lục 9.4.2): Lấy 5,0 g, thêm 15 ml acid hydrocloric (TT), 0,1 ml dung dịch thiếc (II) clorid AsT (TT) và 25 ml nước. Tiến hành theo phương pháp A. Không được có vết màu trên giấy tẩm thủy ngân (II) bromid (TT).

Độ nhạy: Lặp lại phép thử arsen như mô tả ở trên, nhưng thêm 1 ml dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT). Phải xuất hiện vết màu thấy rõ trên giấy tẩm thủy ngân (II) bromid (TT).

Kẽm oxyd

$ZnO = 81,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Kẽm sulfat

$ZnSO_4 \cdot 7H_2O = 287,5$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Kieselguhr

Dùng loại tinh khiết hóa bằng acid.

Kieselguhr G

Kieselguhr (TT) được xử lý với acid hydrocloric và nung, kích thước hạt trung bình 10 µm đến 40 µm, chứa khoảng 15 % calci sulfat hemihydrat.

Phải đáp ứng phép thử sau:

Phân tách sắc ký: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Chế từ kieselguhr trong dung dịch natri acetat 0,27 %.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - propan-2-ol - nước (65 : 23 : 12).

Cách tiến hành: Chấm 5 µl dung dịch chứa 0,01 % (kl/tt) lactose, đường trắng, D-glucose và D-fructose trong pyridin (TT). Triển khai bản mỏng cho đến khi dung môi đi được 14 cm (thời gian triển khai khoảng 40 phút). Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và phun 10 ml dung dịch anisaldehyd (TT). Sấy 5 phút đến 10 phút ở 100 °C đến 105 °C. Trên sắc ký đồ thu được phải có 4 vết, tách nhau rõ ràng.

Lanthan nitrat

$La(NO_3)_3 \cdot 6H_2O = 433,0$

Dùng loại tinh khiết sử dụng cho quang phổ hấp thụ nguyên tử.

Tinh thể màu trắng. Tan trong nước, ethanol và aceton.

Dung dịch lanthan nitrat 5 %

Hòa tan 5 g lanthan nitrat (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Lanthan trioxyd

Lanthan oxyd

$La_2O_3 = 325,8$

Dùng loại tinh khiết hóa học có chứa không quá 5 phần triệu calci.

Dung dịch lanthan clorid

Thêm từ từ 100 ml acid hydrocloric (TT) vào 58,65 g lanthan trioxyd (TT) và đun nóng tới sôi. Để nguội và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Lithi

Li = 6,9

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Kim loại mềm, bề mặt mới cắt có màu xám bạc. Phản ứng rất mạnh với nước. Trước khi sử dụng, rửa sạch dầu parafin bảo quản với *toluen* (TT).

Bảo quản trong ether dầu hỏa nhẹ hay parafin lỏng.

Lithi clorid

LiCl = 42,4

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bảo quản trong đồ chứa kín.

Lithi sulfat $\text{LiSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} = 128,0$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu trắng. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Lưu huỳnh (Lưu huỳnh kết tủa)

S = 32,06

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột xốp, màu vàng xám nhạt hay vàng lục nhạt.

Dung dịch lưu huỳnh kết tủa 1 % trong carbon disulfid

Hòa tan 1 g lưu huỳnh (TT) trong carbon disulfid (TT) vừa đủ 100 ml.

Macrogol 200*Polyethylen glycol 200*

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng nhớt.

Tỷ trọng ở 20 °C : Khoảng 1,127.

Chỉ số khúc xạ : Khoảng 1,450.

Macrogol 200 (TT)*Polyethylen glycol 200 (TT)*

Cho 500 ml *polyethylen glycol 200* (TT) vào bình cầu dung tích 1000 ml. Cắt quay ở 60 °C, với áp suất 1,5 đến 2,5 kPa, trong 6 giờ để loại các thành phần bay hơi.

Magnesi

Mg = 24,31

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu xám hoặc vỏ bào màu trắng bạc.

Magnesi acetat $\text{C}_4\text{H}_6\text{MgO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O} = 214,5$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu, dễ chảy nước. Dễ tan trong nước và ethanol.

Dung dịch magnesi uranyl acetat

Hòa tan bằng cách đun nóng trên cách thủy 3,2 g uranyl acetat (TT), 10 g magnesi acetat (TT), 2 ml acid acetic băng (TT) và khoảng 30 ml nước. Để nguội. Thêm 50 ml ethanol (TT) và nước vừa đủ 100 ml. Để yên 24 giờ, lọc.

Magnesi clorid $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 203,3$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Magnesi nitrat $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 256,4$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu trắng, dễ hút ẩm. Tan trong nước, ethanol và amoniac.

Magnesi oxyd*Magnesi oxyd nhẹ*

MgO = 40,31

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Magnesi oxyd nặng

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Magnesi sulfat $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 246,8$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch magnesi sulfat 25 %

Hòa tan 25 g magnesi sulfat (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch magnesi sulfat 12 %

Hòa tan 12 g magnesi sulfat (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch magnesi sulfat 5 %

Hòa tan 5 g magnesi sulfat (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Mangan sulfat $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} = 169,0$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể hay bột tinh thể màu hồng nhạt. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Phải đáp ứng phép thử sau:

Mất khối lượng do nung: 10,0 % đến 12,0 %. Xác định trên 1,000 g ở 500 °C.

Giấy tẩm mangan bạc

Ngâm các dải giấy lọc trong dung dịch chứa 0,85 % mangan sulfat (TT) và 0,85 % bạc nitrat (TT), để vài phút. Làm khô giấy đã tẩm trên phosphor pentoxyd (TT), tránh hơi acid và kiềm.

(-) Menthol*(-)-p-Menthan-3-ol* $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O} = 156,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh trắng, mùi thơm bạc hà.

Điểm chảy: Khoảng 44 °C.

Năng suất quay cực ở 20 °C: Khoảng -50°, dùng dung dịch 5 % (kl/tt) trong ethanol (TT).

(±) Menthol*(±)-p-Menthan-3-ol* $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O} = 156,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm chảy: Khoảng 34 °C.

Methanol

Alcol methylic

$\text{CH}_3\text{OH} = 32,04$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng trong, không màu, dễ bắt lửa. Trộn lẫn với nước và ethanol.

Tỷ trọng ở 20 °C: 0,791 đến 0,793.

Điểm sôi: 64 °C đến 65 °C.

Methanol khan

Dùng cho phương pháp Karl Fischer và các phương pháp chuẩn độ môi trường khan.

Hàm lượng nước không được quá 0,03 % (kl/tt) (Phụ lục 10.3).

Có thể điều chế bằng phương pháp sau:

Xử lý 1000 ml *methanol* (TT) với 5 g *magnesi* (TT).

Nếu cần, khơi mào phản ứng với 0,1 ml *dung dịch thủy ngân* (II) *diclorid* 5 % (TT). Khi bọt khí bay hết, cất và thu dịch cất vào bình khô, để tránh ẩm.

Methanol dùng cho phương pháp quang phổ

Phải có độ truyền quang tối thiểu là 20 % ở 210 nm, 50 % ở 220 nm, 75 % ở 230 nm, 95 % ở 250 nm và 98 % ở 260 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Methyl acetat

$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2 = 74,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,933.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,361.

Điểm sôi: 56 °C đến 58 °C.

Methyl decanoat

Methyl caprat

$\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_2 = 186,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu hay màu vàng.

Tỷ trọng ở 20 °C: 0,871 đến 0,876.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: 1,425 đến 1,426.

Phải đáp ứng phép thử sau:

Tạp chất liên quan: Tiến hành bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dùng các dung dịch sau:

Dung dịch (1): Dung dịch chế phẩm 0,002 % (kl/tt) trong *carbon disulfid* (TT).

Dung dịch (2): Dung dịch chế phẩm 0,2 % (kl/tt) trong *carbon disulfid* (TT).

Dung dịch (3): *Carbon disulfid* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (1,5 m × 4 mm) nhồi *diatomit silan hóa* (như Diatomit CQ là thích hợp) (100 đến 120 mesh) được bao bằng cao su (methyl) gum silicon 10 % (kl/kl) (như SE-30 là thích hợp). Duy trì nhiệt độ cột ở 150 °C và sử dụng tiền cột chứa bông thủy tinh silan hóa.

Tổng diện tích các pic phụ trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (2) không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (1).

4-Methylaminophenol sulphat

Metol

$(\text{C}_7\text{H}_9\text{NO})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 = 344,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm chảy: Khoảng 260 °C.

4-Methylpentan-2-on

Methyl isobutyl ceton

$(\text{CH}_3)_2\text{CH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_3 = 100,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu.

Điểm sôi: Khoảng 115 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,80.

Muối natri của acid cromotropic

Dinatri 4,5-dihydroxynaphthalen-2,7-disulfonat dihydrat

$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 400,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu trắng vàng. Tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol.

Dung dịch acid cromotropic-acid sulfuric

Hòa tan 5 mg muối natri của *acid cromotropic* (TT) trong 10 ml hỗn hợp gồm 9 ml *acid sulfuric* (TT) và 4 ml nước.

Phải đáp ứng phép thử sau:

Độ nhạy với formaldehyd: Thêm 5 ml *dung dịch formaldehyd* (TT) có nồng độ 1 µg/ml vào 13 ml dung dịch, đun nóng trong cách thủy 30 phút. Màu tím xuất hiện, so sánh với mẫu trắng xử lý tương tự, dùng nước thay cho *dung dịch formaldehyd*.

Naphtalen

$\text{C}_{10}\text{H}_8 = 128,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể trắng.

Điểm chảy: Khoảng 81 °C.

1-Naphthylamin

Naphthylamin; 1-Aminonaphthalen

$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N} = 143,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể gần như không màu hay bột kết tinh màu trắng.

Điểm chảy: Khoảng 51 °C.

Bảo quản tránh ánh sáng.

Dung dịch naphthylamin 0,001 %

Hòa tan 1 mg *naphthylamin* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

N-(1-naphthyl)-ethylendiamin dihydroclorid

$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2 \cdot 2\text{HCl} = 259,2$.

Dùng loại tinh khiết hóa học, có thể chứa methanol lúc kết tinh.

Bột trắng hay màu kem.

Điểm chảy: Không thấp hơn 188 °C.

Dung dịch *N*-(1-naphthyl)-ethylendiamin dihydroclorid 0,5 %

Hòa tan 0,5 g *N*-(1-naphthyl)-ethylendiamin dihydroclorid (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

1-Naphtol

α-Naphtol

$C_{10}H_8O = 144,17$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu, có mùi phenol. Dễ tan trong ethanol, cloroform và ether, ít tan trong nước.

Điểm chảy: Khoảng 95 °C.

Dung dịch 1-naphtol

Hòa tan 0,1 g 1-naphtol (TT) trong 3 ml dung dịch natri hydroxyd 15 % (TT) và pha loãng thành 100 ml với nước.

Chỉ pha trước khi dùng.

2-Naphtol

β-Naphtol

$C_{10}H_7OH = 144,17$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh trắng hay hồng nhạt. Khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol, ether và dung dịch natri hydroxyd.

Điểm chảy: Khoảng 122 °C.

Dung dịch 2-naphtol

Hòa tan 5 g 2-naphtol (TT) mới kết tinh lại trong 40 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch 2-naphtol trong kiềm

Hòa tan 0,20 g 2-naphtol (TT) trong 2 ml dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT) và pha loãng thành 100 ml với nước.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Natri

$Na = 23,0$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Kim loại mềm màu xám bạc. Phản ứng rất mạnh với nước.

Bảo quản trong ether dầu hỏa nhẹ hay parafin lỏng.

Natri acetat

$CH_3COONa.3H_2O = 136,08$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể trong, không màu, chảy nước ở ngoài không khí. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Dung dịch natri acetat 40 %

Hòa tan 40 g natri acetat (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch không bảo quản được lâu.

Dung dịch natri acetat 20 %

Hòa tan 20 g natri acetat (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch không bảo quản được lâu.

Natri azid

$NaN_3 = 65,01$

Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không dưới 98,5 % NaN_3 .

Bột trắng.

Chú ý: Natri azid là một chất độc mạnh. Khi thực nghiệm với natri azid phải tiến hành trong tủ hút có độ thông hơi tốt, đeo găng tay bảo vệ.

Natri benzoat

$C_7H_5NaO_2 = 144,11$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Natri bismuthat

$NaBiO_3 = 280,0$

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 85 % $NaBiO_3$.

Bột màu vàng tới nâu vàng, phân hủy chậm khi gặp ẩm hoặc nhiệt độ cao.

Natri butansulfonat

Natri 1-butansulfonat

$C_4H_9NaO_3S = 160,2$

Dùng loại tinh khiết sắc ký.

Natri carbonat khan

$Na_2CO_3 = 106,00$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột màu trắng, dễ hút ẩm. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Khối lượng mất đi không được quá 1 % khi nung ở 300 °C.

Dung dịch natri carbonat bão hòa

Hòa tan natri carbonat khan (TT) trong nước đến bão hòa, lọc.

Dung dịch natri carbonat 30 %

Hòa tan 30 g natri carbonat khan (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri carbonat 20 %

Hòa tan 20 g natri carbonat khan (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri carbonat 10 %

Hòa tan 10 g natri carbonat khan (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri carbonat 5 %

Hòa tan 5 g natri carbonat khan (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Natri citrat

$C_6H_5Na_3O_7.2H_2O = 294,10$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Natri clorid

NaCl = 58,44

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch natri clorid bão hòaHòa tan 400 g *natri clorid (TT)* trong 1000 ml *nước* và để yên 24 giờ, thỉnh thoảng lắc. Lọc.**Dung dịch natri clorid 10 %**Hòa tan 10 g *natri clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.**Dung dịch natri clorid 1 %**Hòa tan 1 g *natri clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.**Dung dịch natri clorid đẳng trương**Hòa tan 9,0 g *natri clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml. Lọc và tiệt khuẩn.**Dung dịch natri clorid 2 M**Hòa tan 11,688 g *natri clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.**Dung dịch natri clorid - gelatin**Hòa tan 1 g *gelatin (TT)* và 10 g *natri clorid (TT)* trong 100 ml *nước* bằng cách đun nóng trên cách thủy ở nhiệt độ dưới 60 °C.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Natri cobaltinitrit $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6] = 403,9$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột màu vàng cam. Dễ tan trong *nước*, khó tan trong ethanol.**Dung dịch natri cobaltinitrit 10 %**Hòa tan 10 g *natri cobaltinitrit (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Natri dihydrophosphat $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 156,01$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể trắng hay không màu. Dễ tan trong *nước*, hầu như không tan trong ethanol.**Natri dihydrophosphat khan***Natri dihydro orthophosphat khan* $\text{NaH}_2\text{PO}_4 = 120,0$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu trắng. Tan trong *nước*, không tan trong ethanol.**Natri dithionit** $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 = 174.$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu trắng hay trắng xám.

Bảo quản trong đồ đựng kín.

Natri fluorid

NaF = 41,99

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể hay bột màu trắng. Tan trong *nước*, không tan trong ethanol.**Dung dịch natri fluorid 2,5 %**Hòa tan 2,5 g *natri fluorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.**Natri heptansulfonat** $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{NaO}_3\text{S} = 202,3$ Dùng loại tinh khiết sắc ký, chứa không ít hơn 96,0 % $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{NaO}_3\text{S}$.Khối tinh thể trắng hay gần như trắng. Dễ tan trong *nước*, tan trong methanol.**Natri hydrocarbonat***Natri bicarbonat* $\text{NaHCO}_3 = 84,01$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch natri bicarbonat 5 %Hòa tan 5 g *natri bicarbonat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.**Dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 %**Hòa tan 4,2 g *natri hydrocarbonat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.**Dung dịch bão hòa natri hydrocarbonat**Hòa tan 15 g *natri hydrocarbonat (TT)* trong 100 ml *nước*, để yên 24 giờ, thỉnh thoảng lắc. Lọc, sử dụng dịch lọc.**Natri hydrosulfat***Natri bisulfat* $\text{NaHSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} = 120,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm chảy: Khoảng 315 °C.

Natri hydroxyd

NaOH = 40,00

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 97 % lượng kiềm toàn phần tính theo NaOH và không quá 2,0 % Na_2CO_3 .Phiến hay hạt màu trắng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong *nước* và ethanol.**Dung dịch natri hydroxyd 40 %** (Dung dịch natri hydroxyd 10 M)Hòa tan 400 g *natri hydroxyd (TT)* trong *nước*, để nguội, pha loãng thành 1000 ml với *nước*. Để lắng và gạn lấy phần trong.**Dung dịch natri hydroxyd 30 %**Hòa tan 300 g *natri hydroxyd (TT)* trong *nước*, để nguội, pha loãng thành 1000 ml với *nước*. Để lắng và gạn lấy phần trong.**Dung dịch natri hydroxyd 20 %** (Dung dịch natri hydroxyd 5 M)Hòa tan 200 g *natri hydroxyd (TT)* trong *nước*, để nguội, pha loãng thành 1000 ml với *nước*. Để lắng và gạn lấy phần trong.

Dung dịch natri hydroxyd 15 %

Hòa tan 150 g *natri hydroxyd* (TT) trong nước, để nguội, pha loãng thành 1000 ml với nước. Để lắng và gạn lấy phần trong.

Dung dịch natri hydroxyd 10 %

Hòa tan 100 g *natri hydroxyd* (TT) trong nước, để nguội, pha loãng thành 1000 ml với nước. Để lắng và gạn lấy phần trong.

Dung dịch natri hydroxyd 1 M

Hòa tan 40 g *natri hydroxyd* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch natri hydroxyd 2 M

Hòa tan 80 g *natri hydroxyd* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch natri hydroxyd loãng

Hòa tan 8,5 g *natri hydroxyd* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri hydroxyd 5 %

Hòa tan 5 g *natri hydroxyd* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri hydroxyd 2 %

Hòa tan 2 g *natri hydroxyd* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri hydroxyd trong methanol (TT_I)

Hòa tan 0,2 g *natri hydroxyd* (TT) trong 50 ml nước, để nguội và thêm 50 ml *methanol* (TT).

Natri hypobromit (dung dịch)

Trộn 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M* (TT) với 500 ml nước, để lạnh trong nước đá. Thêm 5 ml *dung dịch brom* (TT), khuấy nhẹ đến khi thu được dung dịch trong.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Natri hypoclorit (dung dịch)

Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa từ 10 % đến 14 % Cl.

Dung dịch natri hypoclorit (3 % Cl) (Dung dịch natri hypoclorit mạnh)

Pha loãng *dung dịch natri hypoclorit* (TT) với nước để thu được dung dịch chứa từ 2,5 % đến 3 % Cl.

Định lượng: Cho lần lượt vào bình nón 50 ml nước, 1 g *kali iodid* (TT) và 12,5 ml *dung dịch acid acetic 2 M* (TT). Pha loãng 10,0 ml thuốc thử cần định lượng thành 100 ml với nước. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được vào bình nón đã chuẩn bị ở trên và chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N* (CD), dùng 1 ml *dung dịch hồ tinh bột* (TT) làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N* (CD) tương đương với 3,546 mg Cl.

Bảo quản tránh ánh sáng.

Natri hypophosphit

Natri phosphinat monohydrat

$\text{NaH}_2\text{PO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O} = 106,0$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu trắng hay tinh thể không màu, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Dung dịch hypophosphit (Thuốc thử Tilé)

Hòa tan 20 g *natri hypophosphit* (TT) trong 40 ml nước. Đổ dung dịch thu được vào 180 ml *acid hydrocloric đậm đặc* (TT) và để yên 24 giờ. Khi các tinh thể natri clorid hình thành đã lắng cặn, gạn lấy phần nước. Dung dịch không được có màu.

Natri kali tartrat

Muối Seignette

$\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{NaK} \cdot 4\text{H}_2\text{O} = 282,23$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể hình lăng trụ không màu. Rất dễ tan trong nước.

Dung dịch natri kali tartrat 5 %

Hòa tan 5 g *natri kali tartrat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Natri lauryl sulfat

Natri dodecyl sulfat

$\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S} = 288,4$

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 99,0 % $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$.

Bột hay tinh thể màu trắng đến trắng ngà. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol nóng.

Natri metabisulfit

Natri pyrosulfit

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5 = 190,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 95,0 % $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$.

Natri molybdat

$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 242,0$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột tinh thể màu trắng, mất nước kết tinh ở 100 °C. Tan trong nước.

Natri nitrit

$\text{NaNO}_2 = 69,00$

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không được ít hơn 97,0 % NaNO_2 .

Cốm hay tinh thể màu trắng ngà đến trắng. Tan trong nước, tan ít trong ethanol và ether.

Dung dịch natri nitrit 10 %

Hòa tan 10 g *natri nitrit* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri nitrit 5 %

Hòa tan 5 g *natri nitrit* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri nitrit 1 %

Hòa tan 1 g *natri nitrit* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Natri nitroprusiat

Natri nitroprussid

$\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})] \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 297,95$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột hay tinh thể màu nâu đỏ. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol.

Dung dịch natri nitroprusiat 1 %

Hòa tan 1 g *natri nitroprusiat (TT)* trong nước và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri nitroprusiat 0,5 %

Hòa tan 0,5 g *natri nitroprusiat (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri nitroprusiat 2 %

Hòa tan 2 g *natri nitroprusiat (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri nitroprusiat 5 %

Hòa tan 5 g *natri nitroprusiat (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri nitroprusiat 10 %

Hòa tan 10 g *natri nitroprusiat (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Natri octansulfonat

Muối natri của acid octansulfonic

$\text{Na}_8\text{H}_{17}\text{NaO}_3\text{S} = 216,3$

Dùng loại tinh khiết sắc ký, chứa không ít hơn 98 % $\text{Na}_8\text{H}_{17}\text{NaO}_3\text{S}$.

Natri pentansulfonat

Natri 1-pentansulfonat

$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NaO}_3\text{S} = 174,2$

Dùng loại tinh khiết sắc ký.

Tinh thể màu trắng. Tan trong nước.

Natri perclorat

$\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} = 140,5$

Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không ít hơn 99,0 % $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Dễ chảy nước.

Natri periodat

Natri metaperiodat

$\text{NaIO}_4 = 213,9$

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 99,0 % NaIO_4 .

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước, trong các acid vô cơ và acid acetic.

Dung dịch natri periodat 2,14 %

Hòa tan 2,14 g *natri metaperiodat (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Natri phosphat, tribasic

Trinatri orthophosphat; Trinatri phosphat dodecahydrat

$\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O} = 380,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Natri pyrophosphat

$\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O} = 446,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể không màu, hơi trắng hoa. Dễ tan trong nước.

Natri sulfat

$\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O} = 322,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch natri sulfat 10 %

Hòa tan 10 g *natri sulfat (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Natri sulfat khan

$\text{Na}_2\text{SO}_4 = 142,0$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh màu trắng, dễ hút ẩm. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Mất khối lượng khi sấy khô ở 130 °C không được quá 0,5 %.

Natri sulfid

$\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O} = 240,19$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu trắng, dễ chảy nước. Rất dễ tan trong nước, tan ít trong ethanol, bị vàng trong quá trình bảo quản.

Dung dịch natri sulfid 2 %

Hòa tan 2 g *natri sulfid (TT)* trong nước, thêm 2 - 3 giọt *glycerin (TT)* và pha loãng thành 100 ml với nước.

Dung dịch natri sulfid

Hòa tan bằng cách làm nóng 12 g *natri sulfid (TT)* trong 45 ml hỗn hợp gồm 10 thể tích nước và 29 thể tích *glycerin 85 % (TT)*, để nguội và pha loãng thành 100 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Dung dịch phải không màu.

Dung dịch natri sulfid (TT)

Hòa tan 5 g *natri sulfid (TT)* trong hỗn hợp 10 ml nước và 30 ml *glycerin (TT)*. Hoặc hòa tan 5 g *natri hydroxyd (TT)* trong hỗn hợp 30 ml nước và 90 ml *glycerin (TT)*, bão hòa 1/2 thể tích dung dịch thu được bằng *hydrogen sulfid (TT)*, để nguội, rồi trộn với 1/2 thể tích còn lại.

Natri sulfit

$\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 252,15$

Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không ít hơn 95,0 % $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Tinh thể trắng trong. Tan trong nước, tan rất ít trong ethanol.

Dung dịch natri sulfit 40 %

Hòa tan 40 g *natri sulfit (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch natri sulfit 20 %

Hòa tan 20 g *natri sulfit (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Natri (+) -tartrat

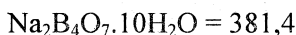
$\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 230,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể hay cốm màu trắng. Rất dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol.

Natri tetraborat

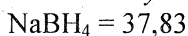
Borax



Dùng loại tinh khiết phân tích.

Natri borohydrid

Natri tetrahydroborat



Tinh thể hút ẩm, dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Natri tetraphenylborat



Dùng loại tinh khiết hóa học.

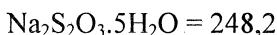
Bột màu trắng hay hơi vàng. Dễ tan trong nước, methanol, ethanol khan và aceton.

Dung dịch natri tetraphenylborat 1 %

Hòa tan 1,0 g *natri tetraphenylborat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dùng trong vòng một tuần và lọc trước khi dùng nếu cần.

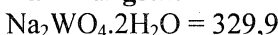
Natri thiosulfat



Dùng loại tinh khiết phân tích.

Cốm màu trắng hay tinh thể trong, không màu. Tan trong nước, tan ít trong ethanol.

Natri tungstat



Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột tinh thể màu trắng. Tan trong nước, ít tan trong ethanol.

Nghệ

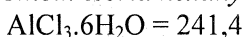
Phẩm màu lấy từ thân rễ cây *Curcuma longa* L, họ Gừng (*Zingiberaceae*).

Cần nghệ

Lấy 20 g bột thân rễ đã sấy khô, ngâm 4 lần, mỗi lần với 100 ml nước. Mỗi lần đều gạn nước trong bỏ đi. Sấy khô cần thu được ở 100 °C đến 105 °C, rồi ngâm với 100 ml ethanol 90 % trong 3 ngày, lọc.

Nhôm clorid

Nhôm clorid hexahydrat



Dùng loại tinh khiết hóa học chứa không ít hơn 98,0 % $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Bảo quản trong đồ chứa kín.

Dung dịch nhôm clorid

Hòa tan 65 g *nhôm clorid* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml, thêm 0,5 g *than hoạt* (TT), khuấy 10 phút, lọc. Thêm *dung dịch natri hydroxyd* 1 % vào dịch lọc, khuấy liên tục, để điều chỉnh pH đến khoảng 1,5 (cần dùng khoảng 60 ml).

Dung dịch nhôm clorid 3 %

Hòa tan 3 g *nhôm clorid* (TT) trong vừa đủ 100 ml ethanol (TT).

Nhôm (Dây)

Al = 26,98

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Nhôm nitrat



Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể dễ bị chảy nước.

Dung dịch nhôm nitrat 10 %

Hòa tan 10 g *nhôm nitrat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Nhôm - nickel hợp kim (Hợp kim Raney)

Chứa 48 % đến 52 % nhôm và 48 đến 52 % nickel.

Kim loại màu xám. Thực tế không tan trong nước, tan trong các acid vô cơ.

Trước khi dùng tán thành bột mịn.

Nhựa trao đổi ion acid mạnh

Hạt nhựa acid mạnh, kích thước 0,3 mm đến 1,2 mm.

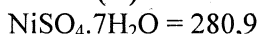
Hiệu suất: 4,5 - 5 mmol/g với hàm lượng nước 50 % đến 60 %.

Chuẩn bị cột:

Dùng ống thủy tinh (40 cm × 20 mm), phía dưới lót đĩa thủy tinh xốp và chiều cao nhựa nhồi khoảng 20 cm. Trộn nhựa với nước, đổ hỗn hợp vào cột sao cho không có bọt khí giữa các hạt nhựa. Khi sử dụng, chất lỏng phải luôn phủ trên bề mặt nhựa.

Nếu nhựa ở dạng quá acid, rửa với nước cho đến khi cần không quá 0,05 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CĐ) để trung hòa 50 ml dịch rửa, dùng *dung dịch da cam methyl* (TT) làm chỉ thị. Nếu nhựa ở dạng natri hoặc cần phải hoàn nguyên, cho 100 ml hỗn hợp đồng thể tích *dung dịch acid hydrocloric* 7 M (TT) và nước chảy chậm qua cột, sau đó rửa cột như mô tả ở trên.

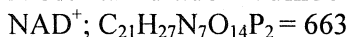
Nickel (II) sulfat



Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể màu lục. Tan trong nước và ethanol.

Nicotinamid-adenin dinucleotid



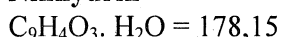
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Dung dịch nicotinamid-adenin dinucleotid

Hòa tan 40 mg *nicotinamid-adenin dinucleotid* (TT) trong nước vừa đủ 10 ml.

Pha ngay trước khi dùng.

Ninhydrin



Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh trắng ngà. Tan trong nước và ethanol, ít tan trong cloroform và ether.
Điểm chảy: Khoảng 255 °C.

Dung dịch ninhydrin 2 %

Hòa tan 2 g *ninhydrin* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch ninhydrin 0,25 %

Hòa tan 0,25 g *ninhydrin* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch ninhydrin 0,1 %

Hòa tan 0,1 g *ninhydrin* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch ninhydrin 0,2 %

Hòa tan 0,2 g *ninhydrin* (TT) trong 100 ml hỗn hợp gồm 95 thể tích *n-butanol* (TT) và 5 thể tích *acid acetic* 2 M (TT).

Dung dịch ninhydrin 0,3 % trong ethanol

Hòa tan 0,3 g *ninhydrin* (TT) trong *ethanol* (TT) vừa đủ 100 ml.

Dung dịch ninhydrin

Dung dịch ninhydrin (TT₁)

Hòa tan 1,0 g *ninhydrin* (TT) trong 50 ml *ethanol* 96 % (TT), thêm 10 ml *acid acetic* băng (TT).

Dung dịch ninhydrin (TT₂)

Hòa tan 3 g *ninhydrin* (TT) trong 100 ml *dung dịch natri metabisulfite* 4,55 %.

Thuốc thử ninhydrin - thiếc clorid

Hòa tan 0,2 g *ninhydrin* (TT) trong 4 ml nước nóng, thêm 5 ml *dung dịch thiếc* (II) *clorid* 0,16 %, để yên 30 phút, lọc và bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C. Trước khi dùng, thêm vào 2,5 ml *dung dịch thu được* 5 ml nước và 45 ml *isopropanol* (TT), trộn đều.

p-Nitroanilin

$C_6H_6N_2O_2 = 138,13$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh màu vàng đậm. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong methanol, tan trong ethanol và ether.

Điểm chảy: Khoảng 148 °C.

Dung dịch p-nitroanilin diazo hóa

Hòa tan 0,4 g *p-nitroanilin* (TT) trong 60 ml *dung dịch acid hydrochloric* 1 M (TT) bằng cách đun nóng, làm lạnh đến 15 °C và nhỏ *dung dịch natri nitrit* 10 % (TT) đến khi 1 giọt hỗn hợp này làm xanh giấy hồ tinh bột có iodic (TT).

Chỉ pha trước khi dùng.

Thuốc thử diazo p-nitroanilin

Hòa tan 0,4 g *p-nitroanilin* (TT) trong một hỗn hợp gồm 20 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT) và 40 ml nước. Làm lạnh ở 15 °C và thêm *dung dịch acid nitric* 10 % (TT) cho đến khi một giọt *dung dịch* làm giấy hồ tinh bột có iodic chuyển thành màu xanh.

Nitrobenzaldehyd

2-Nitrobenzaldehyd

$C_7H_5NO_3 = 151,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể hình kim màu vàng, có mùi hạnh nhân.

Điểm chảy: Khoảng 42 °C.

Dung dịch nitrobenzaldehyd

Thêm 0,12 g bột mịn *nitrobenzaldehyd* (TT) vào 10 ml *dung dịch natri hydroxyd* 2 M (TT). Lắc đều. Để yên 10 phút, thỉnh thoảng lắc, lọc.

Chỉ pha trước khi dùng.

Nitrobenzen

$C_6H_5NO_2 = 123,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng màu vàng nhạt, có mùi hạnh nhân.

Điểm sôi: khoảng 211 °C.

Phải đạt thử nghiệm sau đây:

Dinitrobenzen: Thêm 5 ml *aceton* (TT), 5 ml nước và 5 ml *dung dịch natri hydroxyd* 10 M (TT) vào 0,1 ml *nitrobenzen* (TT), lắc và để yên. Lớp chất lỏng ở trên phải gần như không màu.

Nitrobenzoyl clorid

$C_7H_4ClNO_3 = 185,6$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu vàng, mùi cay hắc.

Điểm chảy: Khoảng 73 °C.

Nitrogen

$N_2 = 28,0$

Dùng loại tinh khiết cho phòng thí nghiệm.

Nitrogen dùng cho sắc ký khí

Nitrogen có chứa không ít hơn 99,5 % (tt/tt) N_2 .

Nitromethan

$CH_3NO_2 = 61,04$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu.

Tỷ trọng ở 20 °C: Từ 1,132 đến 1,134.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Từ 1,381 đến 1,383.

Điểm sôi: Khoảng 102 °C.

Nước

Xem chuyên luận "Nước tinh khiết".

Nước không có amoniac (Nước không có amoni)

Lấy 100 ml nước, thêm 0,1 ml *acid sulfuric* (TT) và cất (dùng dụng cụ cất như mô tả trong Phụ lục 6.8), bỏ 10 ml dịch cất đầu, lấy 50 ml dịch cất tiếp theo.

Nước không có carbon dioxyd

Đun sôi một lượng nước cần thiết trong 10 phút, làm nguội đến 20 °C, tránh sự thâm nhập của carbon dioxyd từ không khí.

Phải đáp ứng phép thử sau: Thêm 1 giọt *dung dịch phenolphthalein* (TT) và 0,05 ml *dung dịch kali*

hydroxyd 0,01 N (TT) vào 10 ml *nước*, hỗn hợp phải có màu hồng bền vững trong ít nhất 120 giây.

Nước không có nitrat

Lấy 100 ml *nước*, thêm 5 mg *kali permanganat (TT)* và 5 mg *bari hydroxyd (TT)*, cất (dùng dụng cụ cất như đã mô tả trong Phụ lục 5.20), bỏ 10 ml dịch cất đầu, lấy 50 ml dịch cất tiếp theo.

Nước không có các tiểu phân

Nước được lọc qua màng lọc cỡ 0,22 µm.

Nước dùng cho sắc ký

Nước khử ion, có điện trở suất không ít hơn 0,18 Mohm-m.

Nước trao đổi ion

Nước cất khử ion, có điện trở suất không ít hơn 18 Mohm-m.

Nước cất

Xem chuyên luận “Nước cất”.

Nước muối sinh lý

Là dung dịch natri clorid 0,9 %.

Oracet lam 2R

1-Amino-4-(phenylamino)anthracen-9,10-dion

$C_{20}H_{14}N_2O_2 = 342,9$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm chảy: Khoảng 174 °C.

Paladi

$Pd = 106,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Pararosanilin hydroclorid

Basis red 9

$C_{19}H_{18}ClN_3 = 323,8$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu đỏ lam.

Điểm chảy: Khoảng 270 °C kèm phân hủy.

Dung dịch pararosanilin đã khử màu

Lấy 0,1 g *pararosanilin hydroclorid (TT)* vào bình nón nút mài, thêm 60 ml *nước* và 10 ml *nước* chứa 1,0 g *natri sulfit khan (TT)* hoặc 2,0 g *natri sulfit (TT)*, hoặc 0,75 g *natri metabisulfit (TT)*. Thêm từ từ 6 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, khuấy liên tục. Đậy nắp bình, tiếp tục khuấy cho đến khi tan hoàn toàn, pha loãng thành 100 ml với *nước*. Để yên 12 giờ trước khi dùng.

Bảo quản tránh ánh sáng.

Pentan

n-Pentan

$C_5H_{12} = 72,15$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu, dễ bay hơi.

Điểm sôi: Khoảng 36 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,63.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,359.

Pentan dùng cho phương pháp quang phổ

Phải đáp ứng phép thử sau:

Độ truyền quang: Không ít hơn 20 % ở 200 nm, 50 % ở 210 nm, 85 % ở 220 nm, 93 % ở 230 nm, 98 % ở 240 nm, dùng *nước* làm mẫu trắng.

Pentanol

Pentan-1-ol, n-Pentanol

$C_5H_{12}O = 88,15$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu.

Điểm sôi: Khoảng 137 °C.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,410.

Phèn chua

Nhôm kali sulfat dodecahydrat

$AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O = 474,4$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột hay tinh thể màu trắng, trong. Dễ tan trong *nước*, không tan trong ethanol.

Dung dịch phèn chua 2 %

Hòa tan 2 g *phèn chua (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Phenazon

2,3-Dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-on

$C_{11}H_{12}N_2O = 188,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh không màu.

Điểm chảy: Khoảng 112 °C.

Phenol

$C_6H_6O = 94,11$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể dễ chảy *nước*, ăn da, có mùi đặc trưng.

Điểm đông đặc: Không thấp hơn 40 °C.

Điểm sôi: Khoảng 180 °C.

Dung dịch acid phenoldisulphonic

Chất lỏng trong, có thể có màu nâu nhạt trong quá trình bảo quản. Được điều chế bằng cách đun nóng 3,0 g *phenol (TT)* với 20 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* trên cách thủy trong 6 giờ và chuyển dung dịch thu được vào bình nút mài. Hoặc bằng cách pha loãng dung dịch thương phẩm *phenol 25 %* với *acid sulfuric (TT)* thành dung dịch *phenol 15 % (kl/tt)*.

Dung dịch phải đạt phép thử sau:

Độ nhạy với nitrat: Cho bay hơi một lượng dung dịch chứa 0,1 mg *kali nitrat (TT)* đến khô trong chén sứ trên cách thủy. Thêm vào căn đã nguội 1 ml thuốc thử và để yên 10 phút. Thêm 10 ml *nước*, làm lạnh, thêm 10 ml *dung dịch amoniac 5 M (TT)* và pha loãng thành 25 ml với *nước*. Xuất hiện màu vàng, phân biệt rõ khi so với dung dịch được pha tương tự nhưng không có kali nitrat.

Phenoxyethanol

2-Phenoxyethanol

$C_8H_{10}O_2 = 138,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng sánh, không màu.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,11.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,537.

Điểm đông đặc: Không thấp hơn 12 °C.

p-Phenylendiamin dihydroclorid

1,4-Diaminobenzen dihydroclorid

$C_6H_8N_2 \cdot 2HCl = 181,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng hoặc vàng nâu nhạt, chuyển màu hồng khi tiếp xúc với không khí. Dễ tan trong nước, ít tan trong ethanol và ether.

Phenylhydrazin hydroclorid

$C_6H_5NH \cdot NH_2 \cdot HCl = 144,61$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng, chuyển sang nâu khi tiếp xúc với không khí. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Điểm chảy: Khoảng 245 °C kèm theo phân hủy.

Dung dịch phenylhydrazin - acid sulfuric

Hòa tan 65 mg *phenylhydrazin hydroclorid (TT)* đã được kết tinh lại trong *ethanol 85 %* trong hỗn hợp gồm 80 ml *nước* và 170 ml *acid sulfuric (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch phenylhydrazin hydroclorid

Hòa tan 0,9 g *phenylhydrazin hydroclorid (TT)* trong 50 ml *nước*. Khử màu bằng *than hoạt (TT)* và lọc. Thêm vào dịch lọc 30 ml *acid hydrocloric (TT)* và pha loãng với *nước* thành 250 ml.

Phloroglucinol

Benzen - 1,3,5- triol

$C_6H_6O_3 \cdot 2H_2O = 162,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu trắng hay màu kem nhạt. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Điểm chảy: Khoảng 223 °C (Phụ lục 6.7, phương pháp 3).

Dung dịch phloroglucinol

Thêm 9 ml *acid hydrocloric (TT)* vào 1 ml dung dịch *phloroglucinol 10 % (kl/tt)* trong *ethanol 96 % (TT)*.

Phosphor pentoxyd

Diphosphor pentoxid

$P_2O_5 = 142,0$

Sử dụng loại chuyên dùng cho bình hút ẩm.

Bột vô định hình màu trắng, chảy rữa khi hydrat hóa với nước và tỏa nhiệt.

Bảo quản trong đồ chứa kín.

Phthalaldehyd

$C_8H_6O_2 = 134,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể màu vàng nhạt. Tan trong nước, ethanol và ether.

Điểm chảy: Khoảng 55 °C.

Thuốc thử phthalaldehyd

Hòa tan 2,47 g *acid boric (TT)* trong 75 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 10,4 bằng *dung dịch kali hydroxyd 45 %* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml (dung dịch A).

Hòa tan 1,0 g *phthalaldehyd (TT)* trong 5 ml *methanol (TT)*, thêm 95 ml dung dịch A và 2 ml *acid mercaptoacetic (TT)*, điều chỉnh pH đến 10,4 bằng *dung dịch kali hydroxyd 45 %*.

Bảo quản tránh ánh sáng và dùng trong vòng 3 ngày.

Piperidin

Hexahydropyridin

$C_5H_{11}N = 85,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng có tính kiềm, không màu đến hơi vàng. Trộn lẫn được với nước, ethanol 96 %, ether và dầu hỏa nhẹ.

Điểm sôi: Khoảng 106 °C.

Poly(dimethyl)siloxan

Silicone gum rubber (methyl)

Dùng loại tinh khiết hóa học dùng cho sắc ký khí.

Organosilicon polymer có bề ngoài là lớp gồm không màu, bán lỏng. Phô hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) không được có đỉnh hấp thụ tại 3053 cm^{-1} của nhóm vinyl, chuẩn bị mẫu đo bằng cách phân tán chất thử vào vài giọt *carbon tetrachlorid*, tạo đĩa natri clorid để đo phổ.

Polyethylen glycol 1500

Macrogol 1500

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Khối sáp màu trắng.

Điểm đông đặc: Khoảng 43 °C đến 48 °C.

Độ nhớt: Khoảng 70 mPas đối với dung dịch 50 % (kl/kl).

Polysorbat-80

Thuốc thử Tween-80

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng sánh, màu vàng hoặc màu đỏ nhạt.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,10 g/ml.

Propanol

Propan-1-ol, n-Propyl alcol

$C_3H_8O = 60,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu.

Điểm sôi: Khoảng 97 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: 0,802 đến 0,806.

Lượng cất được ở khoảng từ 96 °C đến 99 °C, không được ít hơn 95 %.

Pyridin

$C_5H_5N = 79,10$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng không màu, mùi đặc biệt khó chịu, rất hút ẩm. Hòa lẫn được với nước và ethanol.

Điểm sôi: Khoảng 115 °C.

Ghi chú: Nếu chỉ định dùng pyridin khan, dùng loại có hàm lượng nước không quá 0,01 % (kl/kl).

Pyrocatechol

Catechol, Benzen-1,2-diol

$C_6H_6O_2 = 110,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh trắng. Tan trong nước, aceton, ethanol và ether.

Điểm chảy: Khoảng 103 °C.

Pyrogallol

Benzen-1,2,3-triol

$C_6H_6O_3 = 126,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu trắng, chuyển sang màu nâu khi tiếp xúc với không khí và ánh sáng. Tan trong nước, ethanol và ether, tan ít trong cloroform.

Điểm chảy: Khoảng 131 °C.

Dung dịch kiểm pyrogallol

Hòa tan 0,5 g pyrogallol (TT) trong 2 ml nước không có carbon dioxyl (TT). Hòa tan 12,0 g kali hydroxyl (TT) trong 8 ml nước không có carbon dioxyl (TT). Trộn hai dung dịch này ngay trước khi dùng.

Resorcin

Benzen-1,3-diol

$C_6H_4(OH)_2 = 110,1$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể hay bột kết tinh không màu. Tan trong nước, ethanol và ether.

Điểm chảy: Khoảng 111 °C.

Dung dịch resorcin

Hòa tan 50 g resorcin (TT) trong 50 ml nước, để yên 24 giờ, thỉnh thoảng lắc, lọc.

Dung dịch resorcin 2 %

Hòa tan 2 g resorcin (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch resorcin 5 % trong ethanol

Hòa tan 5 g resorcin (TT) trong ethanol (TT) vừa đủ 100 ml.

Rhodamin B

Basic violet 10

$C_{28}H_{31}ClN_2O_3 = 479,0$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể màu xanh lá hay bột màu tím đỏ. Dễ tan trong nước và ethanol.

Salicylaldehyd

2-Hydroxybenzaldehyd

$C_7H_6O_2 = 122,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng dầu, không màu với mùi đặc trưng.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,167.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: 1,574.

Điểm chảy: Khoảng -7 °C.

Điểm sôi: Khoảng 196 °C.

Salicylaldehyd azin

$C_{14}H_{12}N_2O_2 = 240,3$

Hòa tan 0,30 g hydrazin sulfat (TT) trong 5 ml nước, thêm 1 ml acid acetic băng (TT) và 2 ml dung dịch salicylaldehyd 20 % trong propan-2-ol (TT) mới pha. Lắc đều, để yên cho đến khi tạo thành tủa màu vàng. Chiết với 2×15 ml dicloromethan (TT), để yên cho tách lớp, làm khô các lớp dicloromethan bằng natri sulfat khan (TT), cho bay hơi đến khô. Kết tinh lại cần thu được bằng hỗn hợp 60 thể tích toluen (TT) và 40 thể tích methanol (TT) bằng cách làm lạnh. Điểm chảy của tinh thể thu được, sau khi làm khô trên phosphor pentoxyl (TT) và ở áp suất 1,5 đến 2,5 kPa, khoảng 213 °C.

Phải đáp ứng phép thử sau:

Độ đồng nhất: Tiến hành như mô tả trong phép thử Hydrazin trong chuyên luận Povidon. Sắc ký đồ chỉ có một vết duy nhất.

Sắt (III) clorid

$FeCl_3 \cdot 6H_2O = 270,30$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Khối kết tinh màu vàng nâu hay vàng cam, dễ chảy nước. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol và ether.

Dung dịch sắt (III) clorid 20 %

Hòa tan 20 g sắt (III) clorid (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt (III) clorid 10,5 %

Hòa tan 10,5 g sắt (III) clorid (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt (III) clorid 5 %

Hòa tan 5 g sắt (III) clorid (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt (III) clorid 1,3 %

Hòa tan 1,3 g sắt (III) clorid (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt (III) clorid trong ethanol

Hòa tan 1 g sắt (III) clorid (TT) trong ethanol 96 % (TT) vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt (III) clorid 5 % trong acid nitric 50 %
Hòa tan 5 g sắt (III) clorid (TT) trong acid nitric 50 % (TT) vừa đủ 100ml.

Dung dịch sắt (III) clorid - fericyanid - arsenit

Dung dịch A: Hòa tan 2,7 g sắt (III) clorid (TT) trong 100 ml dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT).

Dung dịch B: Hòa tan 3,5 g kali fericyanid (TT) trong 100 ml nước.

Dung dịch C: Hòa tan 3,8 g arsen trioxyd (TT) trong 25 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT) nóng. Để nguội, thêm 50 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT) và pha loãng 100 ml với nước.

Trước khi dùng, trộn đều 5 thể tích dung dịch A, 5 thể tích dung dịch B và 1 thể tích dung dịch C.

Sắt (III) nitrat

$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O} = 404,0$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch sắt (III) nitrat 0,1 % trong acid nitric 0,1 %

Hòa tan 0,1 g sắt (III) nitrat (TT) trong dung dịch acid nitric 0,1 % vừa đủ 100 ml.

Sắt (II) sulfat

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 278,0$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch sắt (II) sulfat 8 %

Hòa tan 8,0 g sắt (II) sulfat (TT) trong nước mới đun sôi để nguội vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch sắt (II) sulfat 1,5 %

Hòa tan 1,5 g sắt (II) sulfat (TT) trong nước mới đun sôi để nguội vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch sắt (II) sulfat (TT₁)

Hòa tan 3 g sắt (II) sulfat (TT) trong hỗn hợp gồm 3 ml dung dịch acid sulfuric 16 % (TT) và 3 ml nước không có carbon dioxyd (TT).

Dung dịch sắt (II) sulfat (TT₂)

Hòa tan 0,45 g sắt (II) sulfat (TT) trong 50 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) và pha loãng thành 100 ml bằng nước không có carbon dioxyd (TT).

Chỉ pha trước khi dùng.

Selen

Se = 78,96

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột màu đỏ rất tối đến đen.

Điểm chảy: Khoảng 220 °C.

Silica gel G

Bột trắng mịn, đồng nhất, kích thước hạt trung bình 10 - 40 μm, có chứa khoảng 13 % $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$.

Hàm lượng $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$:

Cân chính xác khoảng 0,25 g bột, thêm 3 ml dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT) và 100 ml nước, lắc mạnh trong 30 phút. Lọc, rửa cặn bằng nước. Gộp nước rửa vào dịch lọc và tiến hành định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

1 ml dung dịch trilon B 0,1 M (CD) tương đương với 14,51 mg $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$.

Độ acid - kiềm:

Lắc 1 g bột với 10 ml nước không có carbon dioxyd (TT) trong 5 phút, pH của hỗn dịch thu được vào khoảng 7.

Silica gel GF₂₅₄

Bột trắng mịn, đồng nhất, kích thước hạt khoảng 15 μm, có chứa khoảng 13 % $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ và khoảng 1,5 % chỉ thị huỳnh quang có cường độ cực đại ở 254 nm. Phải đáp ứng yêu cầu về hàm lượng calci sulfat và độ acid - kiềm như mô tả trong chuyên luận "Silica gel G" và phép thử sau:

Huỳnh quang: Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Dung môi khai triển: Hỗn hợp acid formic khan-propan-2-ol (1: 9).

Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 vết, từ 1 μl đến 10 μl dung dịch acid benzoic 0,1 % trong pha động. Triển khai bản mỏng tới khi dung môi đi được 10 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng khí nóng và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Các vết acid benzoic nằm ở 1/3 phía trên của sắc ký đồ và phát hiện được các vết từ 2 μl trở lên.

Silica gel H

Bột trắng mịn, đồng nhất, có kích thước hạt trung bình khoảng 15 μm.

Phải đáp ứng phép thử Độ acid - kiềm như mô tả trong chuyên luận "Silica gel G".

Silica gel HF₂₅₄

Bột trắng mịn, đồng nhất, có kích thước hạt trung bình khoảng 15 μm, chứa 1,5 % chỉ thị huỳnh quang có cường độ cực đại ở 254 nm.

Phải đáp ứng phép thử Độ acid - kiềm như mô tả trong chuyên luận "Silica gel G" và phép thử Huỳnh quang như mô tả trong chuyên luận "Silica gel GF₂₅₄".

Silica gel khan

Acid silicic vô định hình, polyme hóa, đã loại nước một phần, ở 20 °C hấp thụ lượng nước tương ứng với khoảng 30 % trọng lượng. Thực tế không tan trong nước, tan một phần trong các dung dịch natri hydroxyd. Chứa chỉ thị thích hợp để xác định trạng thái ẩm: màu thay đổi khi chế phẩm chuyển từ dạng khan sang dạng ngậm nước.

Squalan

2, 6, 10, 15, 19, 23 - Hexamethyltetracosan

 $C_{30}H_{62} = 422,8$

Dùng loại tinh khiết sắc ký khí.

Chất lỏng sánh, không màu.

Tỷ trọng ở 20 °C: 0,811 đến 0,813.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: 1,451 đến 1,453.

Sudan III

Sudan đỏ; 1-(4-phenylazophenylazo)-2-naphthol

 $C_{22}H_{16}N_4O = 352,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu nâu đỏ.

Dung dịch sudan III

Dung dịch sudan III (TT) 0,5 % trong acid acetic khan (TT).

Tanin

Acid tanic

 $C_{76}H_{52}O_{46} = 1701$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột vô định hình hay dạng vảy lấp lánh, màu vàng tới nâu nhạt. Tan trong nước và ethanol.

Dung dịch tanin 5 %

Hòa tan 5 g tanin (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Tetrabutylamoni hydrosulfat $C_{16}H_{37}NO_4S = 339,5$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh màu trắng.

Điểm chảy: 169 °C đến 173 °C.

Độ hấp thụ: Độ hấp thụ của dung dịch chế phẩm 5 % (kl/tt) trong khoảng 240 nm đến 300 nm (Phụ lục 4.1) không được lớn hơn 0,05.

pH của dung dịch chế phẩm 1,7 % khoảng 1,5.

Tetrabutylamoni iodid $C_{16}H_{36}IN = 369,4$ Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 98,0 % $C_{16}H_{36}IN$.

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng hay trắng ngà. Tan trong ethanol.

Phải đáp ứng các phép thử sau:

Tro sulfat: Không quá 0,02 % (Phụ lục 9.9).

Định lượng: Hòa tan 1,200 g chế phẩm trong 30 ml nước. Thêm 50,0 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CD) và 5 ml dung dịch acid nitric loãng (TT). Định lượng bạc nitrat thừa bằng dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N (CD), dùng 2 ml dung dịch sắt (III) amoni sulfat (TT) làm chỉ thị.

1 ml dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CD) tương ứng với 0,03694 g $C_{16}H_{36}IN$.**Tetrabutylamoni hydroxyd** $C_{16}H_{37}NO.30H_2O = 800$ Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không ít hơn 98,0 % $C_{16}H_{37}NO.30H_2O$.Định lượng: Hòa tan 1 g trong 100 ml nước và chuẩn độ ngay bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (CD). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế. 1 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (CD) tương đương với 80,0 mg $C_{16}H_{37}NO.30H_2O$.**Tetrachloroethan**

1,1,2,2-tetrachloroethan

 $C_2H_2Cl_4 = 167,9$

Dùng loại tinh khiết hóa học

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,59.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,495.

Phản chưng cất được trong khoảng 145 °C đến 147 °C không được ít hơn 95 %.

n-Tetradecan $C_{14}H_{30} = 198,4$ Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không ít hơn 99,5 % $C_{14}H_{30}$.

Chất lỏng không màu.

Điểm sôi: Khoảng 253 °C.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,429.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,76.

Điểm chảy: Khoảng - 5 °C.

Tetradecylamoni bromid $C_{40}H_{84}BrN = 659,0$

Dùng loại tinh khiết sắc ký

Điểm chảy: Từ 88 °C đến 89 °C.

Tetraheptylamoni bromid $C_{28}H_{60}BrN = 490,7$

Dùng loại tinh khiết sắc ký.

Điểm chảy: 89 °C đến 91 °C.

Tetrahydrofuran

Tetramethylen oxyd

 $C_4H_8O = 72,1$.

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng trong, không màu, dễ cháy.

Điểm sôi: Khoảng 66 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,89.

Chú ý: Chỉ cất nếu đạt phép thử sau:

Peroxyd: Cho 8 ml dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT) vào ống nghiệm nút mài dung tích 12 ml, đường kính khoảng 1,5 cm, đổ đầy ống nghiệm với tetrahydrofuran cần thử. Đậy nút, lắc mạnh và để yên tránh ánh sáng trong 30 phút. Không được có màu tạo thành.

Tetrahydrofuran dùng cho phương pháp quang phổ

Độ truyền quang: Không nhỏ hơn 20 % ở 255 nm, 80 % ở 270 nm và 98 % ở 310 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Tetramethylamoni hydrosulfat $C_4H_{13}NO_4S = 171,2$.

Dùng loại tinh khiết sắc ký.

Tetramethylamoni hydrosulfat dùng cho sắc ký lỏng phải thỏa mãn yêu cầu sau:

Độ truyền quang: Không được ít hơn 50 % ở 200 nm và 90 % ở 220 nm. Dùng dung dịch 0,005 M để xác định.

Tetramethylamoni hydroxyd pentahydrat

$C_4H_{13}NO.5H_2O = 181,2$.

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm chảy: Khoảng 66 °C.

Dung dịch tetramethylamoni hydroxyd

Dùng loại tinh khiết hóa học, có chứa không ít hơn 10,0 % $C_4H_{13}NO$ (kl/kl).

Chất lỏng trong, không màu hoặc có màu rất nhạt.

Định lượng: Lấy 1,0 g chế phẩm, thêm 50 ml nước và định lượng bằng dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ), dùng dung dịch đỏ methyl (TT) làm chỉ thị.

1 ml dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ) tương đương với 9,115 mg $C_4H_{13}NO$.

Dung dịch tetramethylamoni hydroxyd loãng

Pha loãng 10 ml dung dịch tetramethylamoni hydroxyd (TT) với ethanol không có aldehyd (TT) thành 100 ml. Dung dịch chứa khoảng 1 % $C_4H_{13}NO$ (kl/tt).

Pha ngay trước khi dùng.

Tetrazoli lam

Muối tetrazoli lam; 3,3'-(3,3'-dimethoxy-4,4'-biphenylylen)bis(2,5-diphenyl-2H-tetrazoli clorid)

$C_{40}H_{32}Cl_2N_8O_2 = 727,7$.

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể màu vàng. Ít tan trong nước, dễ tan trong methanol, ethanol và cloroform.

Điểm chảy: Khoảng 245 °C, kèm phân hủy.

Thạch trắng

Agar agar

Dùng loại tinh khiết vi sinh.

Phiến, sợi màu trắng hay trắng ngà, gần như trong suốt, hoặc bột không màu hay trắng ngà. Tan trong nước sôi, ít tan trong nước lạnh, nhưng trương nở thành khối sền sệt.

Thiếc

Thiếc hạt

$Sn = 118,7$

Dùng loại hạt tinh khiết phân tích và đáp ứng phép thử sau:

Arsen: Không quá 10 phần triệu, Phụ lục 9.4.2, phương pháp A, dùng 1 g.

Thiếc (II) clorid

$SnCl_2.2H_2O = 225,63$

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 97,0 % $SnCl_2.2H_2O$.

Tinh thể màu trắng. Tan trong nước, ethanol và dung dịch natri hydroxyd.

Dung dịch thiếc (II) clorid 4 %

Hòa tan 4 g thiếc (II) clorid (TT) trong 4 ml acid hydro-cloric (TT), pha loãng thành 100 ml với nước.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch thiếc (II) clorid 40 % trong acid hydrocloric

Hòa tan 40 g thiếc (II) clorid (TT) trong acid hydrocloric (TT) vừa đủ 100 ml.

Dung dịch thiếc (II) clorid

Đun nóng 20 g thiếc với 85 ml acid hydrocloric (TT) đến khi không còn khí hydro bay ra.

Dung dịch thiếc (II) clorid AsT ✕

Pha loãng gấp đôi dung dịch thiếc (II) clorid (TT) với acid hydrocloric (TT). Bốc hơi tới thể tích ban đầu và lọc qua giấy lọc mịn.

Phải đáp ứng phép thử sau:

Lấy 10 ml thuốc thử, thêm 6 ml nước và 10 ml acid hydrocloric (TT), lấy 16 ml, thêm 50 ml nước, 0,1 ml thuốc thử, 5 ml dung dịch kali iodid 0,1 M và 5 g kẽm không có arsen (TT). Tiến hành thử giới hạn arsen (Phụ lục 9.4.2). Vết thu được trên giấy thủy ngân (II) bromid (TT) không được đậm màu hơn vết khi lặp lại phép thử trên, nhưng thêm 1 ml dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT).

Dung dịch thiếc (II) clorid (TT)

Pha loãng 1 thể tích dung dịch thiếc (II) clorid (TT) bằng 10 thể tích acid hydrocloric 2 M (TT). Chỉ pha dung dịch trước khi dùng.

Dung dịch thiếc (II) clorid (TT)

Lấy 8 g thiếc (II) clorid (TT), thêm 100 ml dung dịch acid hydrocloric 20 %. Lắc đến khi tan hoàn toàn, đun nóng trên cách thủy ở 50 °C nếu cần. Sục khí nitrogen (TT) vào dung dịch trong 15 phút.

Chỉ pha dung dịch trước khi dùng.

Thioacetamid

$CH_3CSNH_2 = 75,13$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước và ethanol, tan ít trong ether.

Điểm chảy: Khoảng 113 °C.

Dung dịch thioacetamid 4 %

Hòa tan 4 g thioacetamid (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch thioacetamid

Thêm 1 ml hỗn hợp gồm 15 ml dung dịch natri hydroxyd 1 N (TT), 5 ml nước và 20 ml glycerin 85 % (TT) vào 0,2 ml dung dịch thioacetamid 4 % (TT), đun nóng trong cách thủy 20 giây, làm lạnh và dùng ngay.

Thioure

$NH_2.CS.NH_2 = 76,12$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể trắng. Tan trong nước và ethanol.

Điểm chảy: Khoảng 178 °C.

Dung dịch thioure 10 %

Hòa tan 10 g *thioure* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Thuốc thử Diazo

Dung dịch acid sulfanilic: Hòa tan 4,5 g *acid sulfanilic* (TT) và 45 ml *acid hydrochloric* (TT) trong nước vừa đủ 500 ml.

Cho 5 ml *dung dịch acid sulfanilic* vào bình định mức 100 ml được làm lạnh bên ngoài bằng nước đá, thêm 2,5 ml *dung dịch natri nitrit 10 %* (TT), để yên trong nước đá 5 phút. Thêm 10 ml *dung dịch natri nitrit 10 %* (TT) và nước vừa đủ đến vạch.

Bảo quản trong nước đá.

Thuốc thử Dragendorff

Dung dịch kali iodobismuthat

Dung dịch 1: Hòa tan 0,85 g *bismuth nitrat base* (TT) trong 40 ml nước và 10 ml *acid acetic* (TT).

Dung dịch 2: Hòa tan 8 g *kali iodid* (TT) trong 20 ml nước.

Trộn đồng thể tích dung dịch 1 và dung dịch 2. Thêm 100 ml nước và 20 ml *acid acetic* (TT) vào mỗi 10 ml hỗn hợp thu được.

Thuốc thử Erdmann

Trộn 20 ml *acid sulfuric* (TT) với 10 giọt hỗn hợp gồm 10 giọt *acid nitric* (TT) và 100 ml nước.

Thuốc thử Fehling

Dung dịch A: Hòa tan 34,66 g *đồng sulfat* (TT) trong nước đã acid hóa bằng 2 giọt đến 3 giọt *acid sulfuric loãng* (TT) vừa đủ 500 ml.

Dung dịch B: Hòa tan 173 g *natri kali tartrat* (TT) và 50 g *natri hydroxyd* (TT) trong 400 ml nước, làm nguội, thêm nước vừa đủ 500 ml.

Khi dùng, trộn đồng thể tích dung dịch A và dung dịch B.

Pha loãng 5 ml thuốc thử Fehling với 5 ml nước và đun sôi, dung dịch phải trong, không được xuất hiện vết tủa.

Thuốc thử iodoplatinat

Thêm 97 ml nước và 100 ml *dung dịch kali iodid 6 %* vào 3 ml *dung dịch acid cloroplatinic 10 %*.

Thuốc thử kali iodobismuthat (TT₁)

Hòa tan 100 g *acid tartric* (TT) trong 400 ml nước, thêm 8,5 g *bismuth nitrat base* (TT), lắc trong 1 giờ. Thêm 200 ml *dung dịch kali iodid 40 %*, lắc đều. Để yên 24 giờ và lọc.

Thuốc thử kali iodobismuthat loãng

Hòa tan 100 g *acid tartric* (TT) trong 500 ml nước, thêm 50 ml *thuốc thử kali iodobismuthat* (TT₁), trộn đều.

Thuốc thử kẽm dithiol

Hòa tan 0,2 g *toluen - 3,4 dithiol - kẽm phức hợp* (TT) trong *dung dịch natri hydroxyd 1 %* (TT) chứa 0,25 ml *ethanol 96 %* (TT). Thêm 1 ml *acid thioglycolic* (TT) và *dung dịch natri hydroxyd 1 %* (TT) vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Thuốc thử Mayer

Dung dịch kali tetraiodomercurat

Hòa tan 1,358 g *thủy ngân diclorid* (TT) trong 60 ml nước, thêm 10 ml *dung dịch kali iodid 50 %* và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Thuốc thử methylaminophenol - sulfat

Hòa tan 0,1 g *4-methylaminophenol sulfat* (TT), 20 g *natri metabisulfat* (TT) và 0,5 g *natri sulfat khan* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Thuốc thử Molybdovanadic

Nghiền mịn 4 g *amon molybdat* (TT) và 0,1 g *amon metavanadat* (TT), hòa tan trong 70 ml nước, thêm 20 ml *acid nitric* (TT) và nước vừa đủ 100 ml.

Thuốc thử Nessler

Hòa tan 10 g *kali iodid* (TT) trong 10 ml nước, thêm từ từ *dung dịch bão hòa thủy ngân diclorid* (TT), khuấy liên tục, cho tới khi xuất hiện tủa đỏ bền vững. Thêm 30 g *kali hydroxyd* (TT), lắc cho tan, thêm 1 ml *dung dịch bão hòa thủy ngân diclorid* (TT). Pha loãng thành 200 ml với nước. Để yên và gạn lấy phần nước trong.

Cho 3 giọt thuốc thử vào 10 ml *dung dịch amoni mẫu 2 phần triệu NH₄* (TT), màu vàng cam phải xuất hiện ngay tức khắc.

Thuốc thử phosphomolybdotungstic

Thuốc thử Folin ciocalteau phenol

Hòa tan 100 g *natri tungstat* (TT) và 25 g *natri molybdat* (TT) trong 700 ml nước, thêm 100 ml *acid hydrochloric* (TT) và 50 ml *acid phosphoric* (TT), đun nóng hỗn hợp dưới ống sinh hàn ngược trong 10 giờ. Thêm 150 g *lithi sulfat* (TT), 50 ml nước và 0,2 ml *brom* (TT), đun sôi (khoảng 15 phút) để đuổi brom thừa, để nguội, pha loãng thành 1000 ml với nước, lọc. Thuốc thử có thể có màu vàng. Nếu thuốc thử có màu xanh thì không được dùng. Xử lý bằng cách đun sôi với 0,2 ml *brom* (TT). Thận trọng khi đun sôi để đuổi brom thừa.

Bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Thuốc thử pyridin - anhydrid acetic

Hòa tan 25 g *anhydric acetic* (TT) trong *pyridin khan* (TT) vừa đủ 100 ml.

Thuốc thử Schweitzer

Hòa tan 10 g *đồng sulfat* (TT) trong 100 ml nước và thêm *dung dịch natri hydroxyd* vừa đủ để kết tủa đồng hydroxyd. Lọc lấy tủa, rửa với nước cho tới khi không còn phản ứng với sulfat. Hòa tan tủa còn ướt trong lượng tối thiểu *amoniac*.

Thuốc thử Tilé

Xem dung dịch hypophosphit.

Thủy ngân (II) acetat

$\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2 = 318,68$

Dùng loại thuốc thử tinh khiết.

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước và ethanol.

Dung dịch thủy ngân (II) acetat 5 %

Hòa tan 5 g *thủy ngân (II) acetat (TT)* trong *acid acetic khan (TT)*, để nguội, thêm *acid acetic khan (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch thủy ngân (II) acetat

Hòa tan 3,19 g *thủy ngân (II) acetat (TT)* trong *acid acetic khan (TT)* vừa đủ 100 ml. Nếu cần, trung hòa với *dung dịch acid perchloric 0,1 M (CĐ)*, dùng *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị.

Thủy ngân (II) bromid

$\text{HgBr}_2 = 360,4$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

✓ Giấy tẩm thủy ngân (II) bromid

Nhúng giấy lọc màu trắng, loại 80g/m² (Whatman No.1 là thích hợp) kích thước 20 cm × 15 mm đã được gấp làm đôi vào một đĩa hình chữ nhật có chứa *dung dịch thủy ngân (II) bromid (TT) 5 %* trong *ethanol (TT)*. Gạn bỏ dung dịch thừa và làm khô bằng cách treo giấy lên một sợi dây không phải bằng kim loại, ở nơi tránh ánh sáng. Cắt bỏ 1 cm ở chỗ nếp gấp và cạnh ngoài. Cắt thành những mẫu vuông có cạnh 15 cm hoặc thành những đĩa hình tròn có đường kính 15 mm. Bảo quản trong lọ thủy tinh nút kín có bọc giấy đen.

Thủy ngân diclorid

Thủy ngân (II) clorid

$\text{HgCl}_2 = 271,50$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước, ethanol, aceton và ether.

Dung dịch thủy ngân diclorid 5 %

Hòa tan 5 g *thủy ngân diclorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Thủy ngân (II) nitrat

$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O} = 342,6$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh màu trắng hay trắng ngà. Dễ tan trong nước và acid loãng.

Dung dịch thủy ngân (II) nitrat

Hòa tan 40 g *thủy ngân oxyd vàng (TT)* trong hỗn hợp gồm 32 ml *acid nitric (TT)* và 15 ml *nước*.

Thủy ngân oxyd vàng

$\text{HgO} = 216,6$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột vô định hình màu vàng cam. Thực tế không tan trong nước và ethanol.

Thủy ngân (II) sulfat

$\text{HgSO}_4 = 296,7$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh hay cốm màu trắng, không mùi.

Dung dịch thủy ngân (II) sulfat

Trộn 5 g *thủy ngân oxyd vàng (TT)* với 40 ml *nước*, thêm 20 ml *acid sulfuric (TT)* và 40 ml *nước*, khuấy liên tục cho tới khi tan hoàn toàn.

Thủy ngân (II) thiocyanat

$\text{Hg}(\text{SCN})_2 = 316,8$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu trắng. Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol và ether, tan trong dung dịch natri clorid.

Dung dịch thủy ngân (II) thiocyanat

Hòa tan 0,3 g *thủy ngân (II) thiocyanat (TT)* trong *ethanol (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dùng trong vòng một tuần.

Titan

Ti = 47,9

Bột kim loại, sợi mảnh (đường kính nhỏ hơn 0,5 mm) hoặc hạt xốp chứa ít nhất 99 % Ti.

Điểm chảy: Khoảng 1668 °C.

Khối lượng riêng: 4,507 g/cm³.

Titan (III) clorid

Titan trichlorid

$\text{TiCl}_3 = 154,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể màu tím đỏ.

Điểm chảy: Khoảng 440 °C.

Bảo quản trong đồ chứa kín.

Dung dịch titan (III) clorid (Dung dịch titan trichlorid)

Dùng loại chứa khoảng 15 % (kl/tt) TiCl_3 trong *dung dịch acid hydrochloric 10 %*.

Khối lượng riêng: Khoảng 1,2 g/ml.

Thuốc thử titan (III) clorid - acid sulfuric (Thuốc thử titan (III) trichlorid – acid sulfuric)

Trộn cân thận 20 ml *dung dịch titan (III) clorid (TT)* với 13 ml *acid sulfuric (TT)*. Thêm *dung dịch hydrogen peroxyd 100 tt (TT)* vừa đủ để dung dịch có màu vàng. Đun nóng cho đến khi khói trắng bay lên, để nguội. Pha loãng với nước. Lặp lại quá trình bốc hơi và thêm nước cho đến khi dung dịch không màu. Pha loãng với nước thành 100 ml.

Toluen*Methyl benzen* $C_6H_5CH_3 = 92,14$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Chất lỏng trong, không màu, dễ cháy. Rất ít tan trong nước, hỗn hợp được với ethanol.

Điểm sôi: Khoảng 110 °C.

Tỷ trọng ở 20 °C: 0,865 đến 0,870.

Toluen-p-sulfonamid*p-Toluensulfonamid; Toluen sulfonamid;**4-Methylbenzensulfonamid* $C_7H_9NO_2S = 171,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm chảy: Khoảng 136 °C.

Phải đáp ứng các phép thử sau:

Độ đồng nhất: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel G*.Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - acid formic khan* (90 : 8 : 2).

Cách tiến hành: Chấm 5 µl dung dịch chế phẩm 0,015 % trong *aceton* (TT). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, làm khô bằng luồng không khí ấm và sấy 10 phút ở 110 °C. Trên sắc ký đồ thu được phải có 4 vết, tách nhau rõ ràng. Đặt dưới đáy bình triển khai sắc ký khô một cốc chứa *dung dịch kali permanganat 50 %*, thêm đồng thể tích *acid hydrochloric* (TT). Đặt bản mỏng còn đang nóng vào bình, đập nắp. Để bản mỏng tiếp xúc với *hơi clor* trong 2 phút. Lấy bản mỏng ra, để dưới luồng khí lạnh cho đến khi hết clor dư và khu vực dưới vết chấm có màu lam rất nhạt khi nhỏ 1 giọt *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid* (TT). Tránh để quá lâu dưới luồng khí lạnh. Phun *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid* (TT) và để yên 5 phút. Trên sắc ký đồ thu được chỉ có duy nhất một vết chính.

Tosylarginin methyl ester hydroclorid*Methyl N-tosyl-L-argininat hydroclorid* $C_{14}H_{22}N_4O_4S.HCl = 378,9$

Dùng loại tinh khiết hóa học thích hợp cho định lượng trypsin.

Bột kết tinh màu trắng.

Điểm chảy: Khoảng 145 °C.

Góc quay cực riêng ở 20 °C: -12° đến -16°, dung dịch 4 % (kl/tt) trong *nước*.**Tributyl phosphat (tributyl orthophosphat)** $C_{12}H_{27}O_4P = 266,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu.

Khối lượng riêng: Khoảng 0,98 g/ml.

Trước khi dùng, rửa 3 lần với dung dịch chứa 10 % *natri clorid* (TT) và 1 % *dinatri hydrophosphat* (TT), mỗi lần với lượng bằng 1/6 thể tích tributyl phosphat.

Triethanolamin $C_6H_{15}NO_3 = 149,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng nhớt, không màu, rất hút ẩm, hơi có mùi amoniac, chuyển sang màu nâu khi tiếp xúc với không khí và ánh sáng.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,13.

Triethylamin $C_6H_{15}N = 101,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu, có mùi amoniac.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,727.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,401.

Điểm sôi: Khoảng 90 °C.

Triethylendiamin*1,4- Diazobicyclo [2,2,2] octan* $C_6H_{12}N_2 = 112,17$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể dễ hút ẩm, thăng hoa ở nhiệt độ phòng. Dễ tan trong nước, aceton và ethanol.

Điểm chảy: Khoảng 158 °C.

Điểm sôi: Khoảng 174 °C.

Trilon B*Dinatri dihydro ethylendiamin tetraacetat; Natri edetat* $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8.2H_2O = 372,24$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh trắng. Tan trong nước, tan rất ít trong ethanol.

Trimethylpentan*Iso-octan; 2,2,4-Trimethylpentan* $C_8H_{18} = 114,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu, dễ bắt lửa. Không tan trong nước, tan trong aceton, cloroform và ether.

Tỷ trọng ở 20 °C: 0,691 đến 0,696.

Chỉ số khúc xạ 20 °C: 1,391 đến 1,393.

Phải đáp ứng các phép thử sau:

Khoảng chưng cất: Không ít hơn 95 % được chưng cất ở 98 °C đến 100 °C.

Trimethylpentan dùng cho phương pháp quang phổ

Độ truyền quang: Không nhỏ hơn 98 % trong khoảng 250 nm đến 420 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Triphenyl tetrazoli clorid*2,3,5- Triphenyl tetrazolium clorid; Muối tetrazolium* $C_{19}H_{15}ClN_4 = 334,8$

Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 98,0 % $C_{19}H_{15}ClN_4$.

Bột màu kem hay vàng nhạt.

Điểm chảy: Khoảng 240 °C kèm phân hủy.

Định lượng: Hòa tan 1,0 g trong hỗn hợp gồm 5 ml *acid nitric 2 M* (TT) và 45 ml nước, thêm 50 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M* (CD) và đun đến sôi. Để nguội,

thêm 3 ml *dibutyl phthalat* (TT), lắc mạnh và định lượng bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 M* (CĐ), dùng 2 ml *dung dịch amoni sắt (II) sulfat 10 %* (TT) làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M* (CĐ) tương đương với 33,48 mg $C_{19}H_{15}ClN_4$.

Dung dịch triphenyl tetrazoli clorid

Hòa tan 0,5 g *triphenyl tetrazoli clorid* (TT) trong 100 ml *ethanol không có aldehyd* (TT).

Tris(hydroxymethyl)aminomethan

Tris(hydroxymethyl)methylamin; Trometamol; THAM
 $C_4H_{11}NO_3 = 121,14$.

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Điểm chảy: Khoảng 170 °C.

Uranyl acetat

$(CH_3COO)_2UO_2 \cdot 2H_2O = 424,15$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu vàng. Tan trong nước, tan ít trong ethanol.

Ure

$CO(NH_2)_2 = 60,06$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước, ethanol và benzen, thực tế không tan trong cloroform và ether.

Điểm chảy: Khoảng 133 °C.

Urotropin

Hexamin; Hexamethylentetramin

$(CH_2)_6N_4 = 140,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu trắng. Tan trong nước, ethanol và cloroform, tan ít trong ether.

Vàng clorid

Acid cloroauric; Hydrogen tetrachloroaurat

$HAuCl_4 + \text{nước}$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Khối màu nâu, dễ chảy nước.

Dung dịch vàng clorid

Hòa tan 1 g *vàng clorid* (TT) trong 35 ml *nước*.

Vanilin

4-Hydroxy-3-methoxy benzaldehyd

$C_8H_8O_3 = 152,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Bột kết tinh hay tinh thể hình kim trắng hoặc màu kem, có mùi thơm vani. Dễ tan trong ethanol, cloroform và ether, tan trong dầu và dung dịch natri hydroxyd.

Điểm chảy: Khoảng 81 °C, xác định bằng cách không sấy trước.

Dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric

Hòa tan 1 g *vanilin* (TT) trong *acid sulfuric đậm đặc* (TT) vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric

Hòa tan 0,1 g *vanilin* (TT) trong 5 ml *acid sulfuric* (TT), pha dùng ngay.

Dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric

Hòa tan 5 g *vanilin* (TT) trong *acid sulfuric* (TT) vừa đủ 100 ml.

Dung dịch vanilin trong acid hydrocloric

Hòa tan 0,2 g *vanilin* (TT) trong 10 ml *acid hydrocloric đậm đặc* (TT).

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch vanilin trong ethanol 96 %

Thêm cẩn thận từng giọt 2 ml *acid sulfuric* (TT) vào 100 ml *dung dịch vanilin 1 % trong ethanol 96 %*.

Dung dịch vanilin trong acid sulfuric

Thuốc thử vanilin trong acid sulfuric

Hòa tan *vanilin* (TT) trong *ethanol 96 %* (TT) đến được dung dịch bão hòa. Lấy phần dung dịch bão hòa, thêm *acid sulfuric* (TT) đến khi có màu vàng.

Dung dịch vanilin-acid sulfuric

Thuốc thử vanilin-acid sulfuric

Trộn đồng lượng dung dịch *vanilin* (TT) 1 % trong *ethanol 96 %* (TT) và *dung dịch acid sulfuric 5 % trong ethanol 96 %*. Pha trước khi dùng.

Dung dịch vanilin trong acid phosphoric

Hòa tan 1 g *vanilin* (TT) trong 25 ml *ethanol 96 %* (TT), thêm 25 ml *nước* và 35 ml *acid phosphoric* (TT). Dùng trong 48 giờ.

2- Vinylpyridin

$C_7H_7N = 105,1$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng màu vàng.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,97.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,549.

Xanthydrol

9-Hydroxyxanthen; Xanthen-9-ol

$C_{13}H_{10}O_2 = 198,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học chứa không ít hơn 90,0 % $C_{13}H_{10}O_2$.

Bột màu trắng hay vàng nhạt.

Điểm chảy: Khoảng 123 °C.

Xanthydrol còn có dạng dung dịch trong methanol chứa 9,0 % đến 11,0 % $C_{13}H_{10}O_2$.

Định lượng: Cân 0,3 g chế phẩm vào bình nón 250 ml, thêm 3ml *methanol* (TT) để hòa tan hay lấy 3 ml dung dịch. Thêm 50 ml *acid acetic băng* (TT) và từng giọt 25 ml *dung dịch ure 2 %*, lắc liên tục. Để yên 12 giờ, lọc lấy tủa qua phễu xốp thủy tinh (16 mm). Rửa tủa với 20 ml *ethanol 96 %* (TT), sấy ở 100 °C đến 105 °C và cân.

Mỗi g tủa tương ứng với 0,9429 g xanthydrol.

Bảo quản tránh ánh sáng. Nếu sử dụng dung dịch trong methanol, bảo quản trong các ống nhỏ, hàn kín và lọc nếu cần trước khi sử dụng.

Xanh methylen

$C_{16}H_{18}N_3ClS \cdot 3H_2O = 373,90$

Bột kết tinh màu nâu sẫm hay lục sẫm, gần như không mùi. Dễ tan trong nước nóng.

Dung dịch xanh methylen 0,15 %

Hòa tan 0,15 g *xanh methylen (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch xanh methylen 0,37 %

Hòa tan 0,37 g *xanh methylen (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Xanh tetrazolium

$C_{40}H_{32}Cl_2N_8O_2 = 727,7$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể màu vàng. Ít tan trong nước, dễ tan trong ethanol, methanol và cloroform.

Điểm chảy: Khoảng 245 °C kèm phân hủy.

Dung dịch xanh tetrazolium

Trộn 1 thể tích *dung dịch xanh tetrazolium (TT)* 0,2 % trong *methanol (TT)* với 3 thể tích *dung dịch natri hydroxyd (TT)* 12 % trong *methanol (TT)*.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Xylen

Dimethyl benzen

$C_6H_4(CH_3)_2 = 106,17$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Hỗn hợp của ortho, meta và para-xylen.

Chất lỏng trong, không màu, dễ bắt lửa.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,867.

Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,497.

Điểm sôi: Khoảng 138 °C.

Zirconyl nitrat

Công thức khoảng: $ZrO(NO_3)_2$ + nước.

Dùng loại tinh khiết hóa học, thường chứa khoảng 44,5 % ZrO_2 .

Dung dịch Zirconyl nitrat

Hòa tan 0,1 g *zirconyl nitrat (TT)* trong hỗn hợp gồm 60 ml *acid hydrochloric (TT)* và 40 ml nước.

2.1.2 CÁC CHẤT CHỈ THỊ

Calcon

Solochrom dark blue; Mordant black 17; Natri 2-Hydroxy-1-(2-hydroxy-1-naphthylazo)-naphthalen-4-sulfonat

$C_{20}H_{13}N_2NaO_5S = 416,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu đen nâu có ánh tím. Tan trong nước và ethanol.

Trong môi trường kiềm, tạo màu đỏ tía với ion calci. Khi không có mặt ion kim loại và dư thừa một lượng nhỏ trilon B, dung dịch có màu xanh lam.

Hỗn hợp calcon

Nghiền, trộn đều 0,1 g *calcon (TT)* với 9,9 g *natri sulfat khan (TT)*.

Độ nhạy: Hòa tan 0,2 g *hỗn hợp calcon (TT)* trong 5 ml nước. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 50 ml nước, 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* và 1 ml *dung dịch magnesi sulfat 1 %*, dung dịch có màu xanh lam. Thêm 0,1 ml *dung dịch calci clorid 0,15 %*, màu chuyển sang đỏ tía. Thêm 0,1 ml *dung dịch trilon B 0,01 M (CĐ)*, màu lại chuyển sang màu xanh lam.

Da cam methyl

Helianthin; Natri 4'-dimethylaminoazobenzen-4-sulfonat

$C_{14}H_{14}N_3NaO_3S = 327,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột hay tinh thể màu vàng cam. Dễ tan trong nước nóng, không tan trong ethanol.

Vùng chuyển màu: pH 3,0 (đỏ) đến pH 4,4 (vàng).

Dung dịch da cam methyl

Hòa tan 0,1 g *da cam methyl (TT)* trong 80 ml nước, thêm *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT), thêm 0,1 ml *dung dịch da cam methyl (TT)*, dung dịch có màu vàng. Khi thêm không quá 0,1 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (CĐ)*, màu phải chuyển sang đỏ.

Da cam xylenol

Tetranatri 3,3'-(3H-2,1-benzoxathiol-3-yliden) bis [(6-hydroxy-5-methyl-3,1-phenylen) methyleneiminobisacetat] S, S-dioxid.

$C_{31}H_{28}N_2Na_4O_{13}S = 761,0$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu nâu đỏ. Dễ tan trong nước, không tan trong ethanol.

Trong các dung dịch kiềm, tạo màu tím với ion thủy ngân, chì, kẽm và một số ion kim loại khác. Khi không có mặt các ion kim loại và dư trilon B, dung dịch có màu vàng.

Hỗn hợp da cam xylenol

Nghiền, trộn đều 1 phần *da cam xylenol (TT)* với 99 phần *kali nitrat (TT)*.

Thử độ nhạy: Thêm 50 mg *hỗn hợp da cam xylenol (TT)* vào hỗn hợp gồm 50 ml nước, 1 ml *acid acetic 2 M (TT)* và 0,05 ml *dung dịch chỉ nitrat (TT)*. Thêm vừa đủ một lượng *hexamin (TT)* để làm chuyển màu từ vàng sang đỏ tím, thêm 0,1 ml *dung dịch trilon B 0,1 M (CĐ)*, màu chuyển sang vàng.

Dung dịch da cam xylenol

Hòa tan 0,1 g *da cam xylenol (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml và lọc nếu cần.

Diclorofluorescein

2,7-Diclorofluorescein; Acid 2-(2,7-Dicloro-6-hydroxy-3-oxo-3H-xanthen-9-yl) benzoic

$C_{20}H_{10}Cl_2O_5 = 401,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu nâu vàng đến cam vàng. Ít tan trong nước, dễ tan trong ethanol và các dung dịch hydroxyd kiềm loãng, thực tế không tan trong ether.

Đen eriocrom T

Mordant black 11; Natri 2-hydroxy-1-[(1-hydroxy-naphth-2-yl)azo]-6-nitronaphthalen-4-sulfonat

$C_{20}H_{12}N_3NaO_7S = 461,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu đen nâu, có ánh kim loại. Tan trong nước và ethanol.

Trong môi trường kiềm, tạo màu đỏ với ion calci, magnesi, kẽm và một số kim loại khác. Khi không có mặt các ion kim loại và dư thừa một lượng nhỏ trilon B, dung dịch có màu xanh lam.

Dung dịch đen eriocrom T

Hòa tan 0,1 g đen eriocrom T (TT) trong ethanol 96 % (TT) vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Hỗn hợp đen eriocrom T

Nghiền, trộn đều 1 phần đen eriocrom T (TT) với 99 phần natri clorid (TT).

Độ nhạy: Hòa tan 0,05 g hỗn hợp đen eriocrom T (TT) trong 100 ml nước, dung dịch có màu tím nâu. Thêm 0,3 ml dung dịch amoniac 10 % (TT), dung dịch chuyển thành màu xanh lam, thêm tiếp 0,1 ml dung dịch magnesi sulfat 1 %, màu phải chuyển sang tím.

Đỏ congo

Dinatri (biphenyl-4,4'-diyl-bis-2,2'-azo)bis(1-aminonaphthalen-4-sulfonat)

$C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2 = 697,0$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu đỏ nâu. Tan trong nước.

Vùng chuyển màu: pH 3,0 (lam) đến pH 5,0 (hồng).

Dung dịch đỏ congo

Hòa tan 0,1 g đỏ congo (TT) trong 20 ml ethanol 96 % (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT), thêm 0,2 ml dung dịch đỏ congo (TT) và 0,3 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ), dung dịch có màu xanh lam. Khi thêm không quá 0,3 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ), màu phải chuyển sang hồng đỏ.

Đỏ cresol

o-Cresolsulfonphthalein; 4,4'-(3H-2,1-benzoxathiol-3-yliden) di-o-cresol S,S-dioxyd

$C_{21}H_{18}O_5S = 382,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu nâu đỏ. Ít tan trong nước, dễ tan trong ethanol và dung dịch natri hydroxyd.

Vùng chuyển màu: pH 7,0 (vàng) đến pH 8,8 (đỏ).

Dung dịch đỏ cresol

Hòa tan bằng cách đun nóng nhẹ 0,1 g đỏ cresol (TT) với hỗn hợp gồm 2,65 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT) và 20 ml ethanol 96 % (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT), thêm 0,1 ml dung dịch đỏ cresol (TT) và 0,15 ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ), dung dịch có màu đỏ tía. Khi thêm không quá 0,15 ml dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ), màu phải chuyển sang vàng.

Đỏ methyl

Acid 2-(4-dimethylaminophenylazo)benzoic

$C_{15}H_{15}N_3O_2 = 269,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể màu tím hay bột màu đỏ sẫm. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol và acid acetic.

Vùng chuyển màu: pH 4,4 (đỏ) đến pH 6,0 (vàng).

Dung dịch đỏ methyl

Hòa tan 50 mg đỏ methyl (TT) trong hỗn hợp gồm 1,86 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT) và 50 ml ethanol 96 % (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT), thêm 0,05 ml dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ) và 0,1 ml dung dịch đỏ methyl (TT), dung dịch có màu đỏ. Khi thêm không quá 0,1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ), màu phải chuyển sang vàng.

Dung dịch hỗn hợp đỏ methyl

Hòa tan 0,1 g đỏ methyl (TT) và 0,05 g xanh methylen (TT) trong ethanol 96 % (TT) vừa đủ 100 ml.

Đỏ phenol

Phenolsulfonphthalein; 4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden)diphenol S,S-dioxyd

$C_{19}H_{14}O_5S = 354,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu đỏ. Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol, dễ tan trong các dung dịch kiềm.

Vùng chuyển màu: pH 6,8 (vàng) đến pH 8,4 (đỏ).

Dung dịch đỏ phenol (TT₁)

Hòa tan 0,1 g đỏ phenol (TT) trong hỗn hợp gồm 2,82 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT) và 20 ml ethanol 96 % (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT), thêm 0,1 ml dung dịch đỏ phenol (TT), dung dịch có màu vàng. Khi thêm không quá 0,1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ), màu phải chuyển sang tím đỏ.

Dung dịch đỏ phenol (TT₂)

Dung dịch 1: Hòa tan 33 mg đỏ phenol (TT) trong 1,5 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch 2: Hòa tan 25 mg *amoni sulfat (TT)* trong 235 ml nước, thêm 105 ml dung dịch *natri hydroxyd 2 M (TT)* và 135 ml dung dịch *acid acetic 2 M (TT)*. Thêm 25 ml dung dịch 1 vào dung dịch 2. Nếu cần, điều chỉnh pH của hỗn hợp tới 4,7.

Đỏ tía bromocresol

3',3'-Dibromo-o-cresolsulfonphthalein; 4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden)bis(6-bromo-o-cresol) S,S-dioxyd

$C_{21}H_{16}Br_2O_5S = 540,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu hồng. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol và các dung dịch kiềm loãng.

Vùng chuyển màu: pH 5,2 (vàng) đến pH 6,8 (lam).

Dung dịch đỏ tía bromocresol

Hòa tan 0,05 g đỏ tía bromocresol (TT) trong hỗn hợp gồm 0,92 ml dung dịch *natri hydroxyd 0,1 N (TT)* và 20 ml ethanol 96 % (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT), thêm 0,2 ml dung dịch đỏ tía bromocresol (TT) và 0,05 ml dung dịch *natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)*, dung dịch có màu tím xanh. Khi thêm không quá 0,20 ml dung dịch *acid hydrochloric 0,02 N (TT)*, màu phải chuyển sang vàng.

Đỏ tía cresol

m-Cresolsulfonphthalein

$C_{21}H_{18}O_5S = 382,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu lục nâu. Khó tan trong nước, tan trong methanol, ethanol và acid acetic băng.

Vùng chuyển màu: pH 1,2 (đỏ) đến pH 2,8 (vàng); pH 7,4 (vàng) đến pH 9,0 (đỏ tía).

Dung dịch đỏ tía cresol

Hòa tan 0,1 g đỏ tía cresol (TT) trong 13 ml dung dịch *natri hydroxyd 0,01 N (TT)*, thêm nước vừa đủ 100 ml.

Đỏ tía phthalein

Metalphthalein; (1,3-Dihydro-3-oxo-isobenzofuran-1-yliden)bis[(6-hydroxy-5-methyl-3,1-phenylen)bis(methylen eimino)diacetic acid]

$C_{32}H_{32}N_2O_{12} + \text{nước}$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu trắng kem đến nâu. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol.

Độ nhạy: Hòa tan 10 mg đỏ tía phthalein (TT) trong 1 ml *amoniac 13,5 M (TT)*, pha loãng thành 100 ml với nước. Lấy 5 ml dung dịch thu được, thêm 95 ml nước, 4 ml *amoniac 13,5 M (TT)*, 50 ml ethanol 96 % (TT) và 0,1 ml dung dịch *bari clorid 0,1 M (CĐ)*; dung dịch có màu tím lam. Thêm 0,15 ml dung dịch *trilon B 0,1 M (CĐ)*, dung dịch mất màu.

Đỏ trung tính

Basic red 5; 2-Methyl-3-amino-7-dimethylamino-phenazin hydroclorid

$C_{15}H_{17}ClN_4 = 288,8$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu đỏ nhạt. Ít tan trong nước và ethanol.

Vùng chuyển màu: pH 6,8 (đỏ) đến pH 8,0 (da cam).

Dung dịch đỏ trung tính

Hòa tan 0,1 g đỏ trung tính (TT) trong ethanol 50 % vừa đủ 100 ml.

Eosin

Acid đỏ 87

$C_{20}H_6Br_4Na_2O_5 = 691,9$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu đỏ. Dễ tan trong nước, ít tan trong ethanol.

Dung dịch eosin

Hòa tan 0,5 g eosin (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Ethoxycrysoidin hydroclorid

4-[(4-Ethoxyphenyl)diazetyl]phenylen-1,3-diamin hydroclorid

$C_{14}H_{16}N_4O \cdot HCl = 292,8$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu đỏ. Tan trong nước và ethanol.

Dung dịch ethoxycrysoidin

Hòa tan 0,1 g ethoxycrysoidin hydroclorid (TT) trong ethanol 96 % (TT) vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Thêm 0,05 ml dung dịch brom 0,0167 M (TT) vào hỗn hợp gồm 0,05 ml dung dịch ethoxycrysoidin hydroclorid (TT) và 5 ml dung dịch *acid hydrochloric 2 M (TT)*. Màu của dung dịch chuyển từ đỏ sang vàng nhạt trong vòng 2 phút.

Lục bromocresol

3',3'',5',5''-Tetrabromo-m-cresolsulfonphthalein;

4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden) bis (2,6-dibromo-m-cresol) S,S-dioxyd

$C_{21}H_{14}Br_4O_5S = 698,0$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu trắng nâu hay vàng nhạt. Ít tan trong nước, tan trong ethanol và các dung dịch kiềm loãng.

Vùng chuyển màu: pH 3,6 (vàng) đến pH 5,2 (lam).

Dung dịch lục bromocresol (TT₁)

Hòa tan 0,05 g lục bromocresol (TT) trong hỗn hợp gồm 0,72 ml dung dịch *natri hydroxyd 0,1 N (TT)* và 20 ml ethanol 96 % (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT), thêm 0,2 ml dung dịch lục bromocresol (TT), dung dịch có màu xanh lam. Khi thêm không quá 0,2 ml dung dịch *acid hydrochloric 0,02 N (CĐ)*, màu phải chuyển sang vàng.

Dung dịch lục bromocresol (TT₂)

Nghiền kỹ 0,2 g lục bromocresol (TT) với 2,8 ml dung dịch *natri hydroxyd 0,1 N (TT)*, pha loãng thành 200 ml với nước và lọc nếu cần.

Dung dịch lục bromocresol - đỏ methyl (Dung dịch xanh bromocresol - đỏ methyl)

Hòa tan 0,15 g *lục bromocresol (TT)* và 0,1 g *đỏ methyl (TT)* trong 180 ml *ethanol (TT)*, pha loãng với nước thành 200 ml.

Lục malachit

Victoria green; [4-[[4-Dimethylamino)phenyl]phenyl-methylen]cyclohexan-2,5-dien-1-yliden] dimethyl amoni clorid

$C_{23}H_{25}ClN_2 = 364,9$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Tinh thể màu lục, có ánh kim loại. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol và methanol.

Dung dịch 0,001 % (kl/tt) trong *ethanol 96 % (TT)* có hấp thụ cực đại ở 617 nm.

Dung dịch lục malachit 0,5 %

Hòa tan 0,5 g *lục malachit (TT)* trong *acid acetic khan (TT)* vừa đủ 100 ml.

Murexid

Muối monoamoni 5,5'-nitrolobis[pirimidin-2,4,6-(1H,3H,5H)trion] của acid purpuric.

$C_8H_8N_6O_6 \cdot H_2O = 302,20$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột tinh thể màu đỏ nâu. Khó tan trong nước lạnh, tan trong nước nóng và ethanol. Tan trong các dung dịch kali hydroxyd và natri hydroxyd, cho màu xanh lam.

Dung dịch murexid

Hòa tan 0,25 g *murexid (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Hỗn hợp murexid

Nghiền, trộn đều 0,25 g *murexid (TT)* với 25 g *natri clorid (TT)*.

1-Naphtholbenzein

α-Naphtholbenzein; Phenylbis(4-hydroxynaphthyl)-methanol

$C_{27}H_{20}O_3 = 392,5$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu nâu đỏ. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol và acid acetic băng.

Dung dịch 1-naphtholbenzein

Hòa tan 0,2 g *1-naphtholbenzein (TT)* trong 100 ml *acid acetic khan (TT)*.

Độ nhạy: Lấy 50 ml *acid acetic khan (TT)*, thêm 0,25 ml *dung dịch 1-naphtholbenzein (TT)*, dung dịch có màu vàng nâu. Khi thêm không quá 0,05 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CD)*, màu phải chuyển sang xanh lục.

O-Phenanthrolin

1,10 - Phenanthrolin hydroclorid

$C_{12}H_8N_2 \cdot HCl \cdot H_2O = 234,7$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Điểm chảy: Khoảng 215 °C kèm phân hủy.

Dung dịch feroiin sulfat

Hòa tan 0,7 g *sắt (II) sulfat (TT)* và 1,76 g *O-phenanthrolin (TT)* trong 70 ml nước. Thêm nước vừa đủ 100 ml.

Phenolphthalein

3,3' - Bis(4 - hydroxyphenyl)phthalid

$C_{20}H_{14}O_4 = 318,3$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu trắng hay trắng ngà. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol.

Vùng chuyển màu: pH 8,2 (không màu) đến pH 10,0 (đỏ).

Dung dịch phenolphthalein

Hòa tan 0,1 g *phenolphthalein (TT)* trong 80 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT), thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)*, dung dịch không màu. Khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CD)*, phải xuất hiện màu hồng.

Dung dịch phenolphthalein (TT)

Hòa tan 1 g phenolphthalein (TT) trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Quỳ

Là sắc tố màu chàm chiết từ các loại địa y như *Rocella, Lecanora* v.v....

Mảnh nhỏ màu lục thẫm. Tan trong nước và ethanol.

Vùng chuyển màu: đỏ (pH 5,0) đến xanh lam (pH 8,0).

Giấy quỳ xanh

Đun sôi 10 phần *quỳ (TT)* đã tán thành bột thô với 100 phần *ethanol 96 % (TT)* dưới sinh hàn trong 1 giờ. Gạn bỏ phần ethanol. Thêm hỗn hợp gồm 45 phần *ethanol 96 % (TT)* và 55 phần nước vào cấn. Để yên 2 ngày, gạn lấy phần dịch trong (dịch chiết A). Tẩm dịch chiết A vào các mảnh giấy lọc, để khô.

Độ nhạy: Nhúng mảnh giấy quỳ xanh, kích thước 10 mm × 60 mm, vào hỗn hợp gồm 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,002 N (TT)* và 90 ml nước. Lắc nhẹ, giấy phải chuyển màu sang đỏ trong vòng 45 giây.

Giấy quỳ đỏ

Lấy dịch chiết A trong điều chế Giấy quỳ xanh, thêm từng giọt *dung dịch acid hydrocloric 2 N (TT)* cho đến khi màu xanh chuyển thành đỏ. Tẩm dung dịch thu được vào các mảnh giấy lọc, để khô.

Độ nhạy: Nhúng mảnh giấy quỳ đỏ, kích thước 10 mm × 60 mm, vào 100 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,002 N (TT)*. Lắc nhẹ, giấy phải chuyển màu sang xanh trong vòng 45 giây.

Dung dịch quỳ

Đun sôi 25 g *quỳ (TT)* đã tán thành bột thô với 100 ml *ethanol 90 %* dưới sinh hàn trong 1 giờ. Gạn bỏ phần dịch trong, lặp lại quá trình này 2 lần, mỗi lần với

75 ml *ethanol* 90 %. Hòa lượng quỹ đã được chiết vào 250 ml *nước*, lọc.

Sắt (III) amoni sulfat

Phèn sắt amoni; Amoni sắt (III) sulfat

$\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O} = 482,2$

Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể màu trắng tới tím nhạt. Dễ tan trong *nước*, thực tế không tan trong *ethanol*.

Dung dịch sắt (III) amoni sulfat 20 %

Hòa tan 20 g *sắt (III) amoni sulfat (TT)* trong 75 ml *nước*, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric* 2,8 % và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt (III) amoni sulfat

Hòa tan 30 g *sắt (III) amoni sulfat (TT)* trong 40 ml *acid nitric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml. Nếu *dung dịch* đục thì phải lọc hoặc ly tâm.

Dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 %

Hòa tan 10 g *sắt (III) amoni sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Thymolphthalein

3,3-Bis (4-hydroxy-5-isopropyl-2-methylphenyl) phthalid

$\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{O}_4 = 430,5$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu trắng. Thực tế không tan trong *nước*, tan trong *ethanol* và các *dung dịch* kiềm loãng.

Vùng chuyển màu: Không màu (pH 9,3) đến xanh lam (pH 10,5).

Dung dịch thymolphthalein

Hòa tan 0,10 g *thymolphthalein (TT)* trong *ethanol* 96 % (TT) vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm 0,2 ml *dung dịch thymolphthalein (TT)*, *dung dịch* không màu. Khi thêm không quá 0,05 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 N (CD), phải xuất hiện màu xanh lam.

Tím pyrocatechin

Pyrocatechinsulfonphthalein; Tím catechol; 4,4'-(3H-2,1-Benzoxanthiol-3-yliden)dipyrocatechol S,S-dioxyd

$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_7\text{S} = 386,38$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu nâu đỏ với ánh kim loại. Dễ tan trong *nước* và *ethanol*.

Trong môi trường acid (pH 2 – 3) tạo màu xanh lam với ion bismuth và khi không có mặt ion này, *dung dịch* có màu vàng. Trong môi trường kiềm tạo màu lam lục với ion magnesi và ion kẽm, khi không có mặt các ion này, *dung dịch* có màu tím đỏ.

Dung dịch tím pyrocatechin

Hòa tan 0,1 g *tím pyrocatechin (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Tím tinh thể

Gentialviolet; Hexamethyl-p-rosanilin clorid

$\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{ClN}_3 = 408,0$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh hay tinh thể màu lục thẫm, có ánh kim loại. Tan trong *nước*, *ethanol* và acid acetic khan.

Khi dùng chuẩn độ trong môi trường khan, màu chuyển từ tím (kiềm) qua lục lam (trung tính) đến lục vàng (acid).

Dung dịch tím tinh thể

Hòa tan 0,50 g *tím tinh thể (TT)* trong *acid acetic khan (TT)* vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 50 ml *acid acetic khan (TT)*, thêm 0,1 ml *dung dịch tím tinh thể (TT)*, *dung dịch* có màu tím. Thêm 0,10 ml *dung dịch acid perchloric* 0,1 N (CD), màu của hỗn hợp phải chuyển sang lục lam.

Tinh bột

Bột rất mịn, không mùi, không vị.

Dùng loại tinh khiết.

Dung dịch hồ tinh bột

Nghiền 1 g *tinh bột (TT)* với 5 ml *nước*, rồi vừa đổ vừa khuấy vào 100 ml *nước* sôi. Đun sôi tiếp cho đến khi thu được chất lỏng chỉ hơi đục.

Pha trước khi dùng.

Độ nhạy: Lấy 5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, pha loãng thành 100 ml với *nước*, thêm 2 giọt *dung dịch iod* 0,1 N (CD), *dung dịch* phải có màu xanh lam.

Dung dịch hồ tinh bột có kali iodid

Hòa tan 0,5 g *kali iodid (TT)* vào 100 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* mới pha.

Dung dịch này chỉ dùng trong 24 giờ.

Giấy hồ tinh bột có iodid

Tắm ướt giấy lọc với *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)*, để khô ở chỗ tối không có hơi acid. Cắt giấy thành những băng dài 50 mm, rộng 6 mm. Khi nhỏ 1 giọt *dung dịch acid hydrochloric* 0,1 N (CD) vào băng giấy chỉ thị, không được xuất hiện màu xanh lam ngay lập tức.

Bảo quản trong lọ thủy tinh màu nâu, nút mài.

Độ nhạy: Trộn 0,05 ml *dung dịch natri nitrit* 0,1 M (CD) và 4 ml *acid hydrochloric (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml. Nhỏ 0,05 ml *dung dịch* thu được lên băng giấy chỉ thị, phải xuất hiện màu xanh lam ngay tức khắc.

Vàng alizarin

4-Nitro-4'-oxyazobenzen-3'-natri carboxylat

$\text{C}_{13}\text{H}_8\text{N}_3\text{NaO}_5 = 309,2$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu nâu đỏ hay nâu vàng. Ít tan trong *nước* và *ethanol*.

Vùng chuyển màu: pH 10,1 (vàng) đến pH 12,1 (tím hồng).

Dung dịch vàng alizarin

Đun cách thủy để hòa tan 0,1 g vàng alizarin (TT) đã tán nhỏ trong một ít nước, để nguội và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Vàng metanil

Natri 3-[4-(phenylamino) phenylazo] benzensulphonat
 $C_{18}H_{14}N_3NaO_3S = 375,4$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu vàng nâu. Tan trong nước và ethanol, rất ít tan trong ether.

Khi dùng để chuẩn độ trong môi trường khan, màu chuyển từ vàng (kiềm) sang đỏ tía (acid).

Dung dịch vàng metanil

Hòa tan 0,1 g vàng metanil (TT) trong methanol (TT) vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Thêm 0,1 ml dung dịch vàng metanil (TT) vào 50 ml acid acetic khan (TT), dung dịch có màu đỏ hồng. Thêm 0,05 ml dung dịch acid perchloric 0,1 M (CĐ), màu chuyển sang tím.

Vùng chuyển màu: pH 1,2 (đỏ) đến pH 2,3 (vàng cam).

Vàng titan

Thiazol yellow

Dinatri 2,2'-[(1-triazen-1,3-diyl)di-4,1-phenylen] bis-[6-methylbenzothiazol-7-sulfonat]

$C_{28}H_{19}N_5Na_2O_6S_4 = 696,0$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu nâu vàng. Dễ tan trong nước và ethanol.

Dung dịch vàng titan

Hòa tan 0,05 g vàng titan (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Thêm 0,1 ml dung dịch vàng titan (TT) vào hỗn hợp gồm 10 ml nước, 0,2 ml dung dịch magnesi mẫu 10 phần triệu (TT) và 1,0 ml natri hydroxyd 1 M (CĐ). Dung dịch có màu hồng, thấy rõ khi so sánh với dung dịch đối chiếu được chuẩn bị tương tự, nhưng không có dung dịch magnesi mẫu 10 phần triệu (TT).

Giấy vàng titan

Tẩm giấy lọc bằng dung dịch vàng titan (TT), rồi để khô ở nhiệt độ phòng.

Xanh bromophenol

3,3'-5,5'-Tetrabromophenolsulfonphthalein

4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden) bis (2,6-Dibromophenol) S,S-dioxyd

$C_{19}H_{10}Br_4O_5S = 670,0$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu vàng cam. Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol, dễ tan các dung dịch kiềm hydroxyd loãng.

Vùng chuyển màu: pH 2,8 (vàng) đến pH 4,6 (tím lam).

Dung dịch xanh bromophenol

Hòa tan 0,1 g xanh bromophenol (TT) trong hỗn hợp gồm 1,5 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT) và 20 ml ethanol 96 % (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 20 ml nước không có carbon dioxyd (TT), thêm 0,05 ml dung dịch xanh bromophenol (TT) và 0,05 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ), dung dịch có màu vàng. Khi thêm không quá 0,10 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ), màu phải chuyển sang tím lam.

Dung dịch xanh bromophenol trong ethanol

Hòa tan 0,1g xanh bromophenol (TT) trong ethanol 20 % vừa đủ 100 ml.

Dung dịch xanh bromophenol (TT)

Hòa tan 50 mg xanh bromophenol (TT) bằng cách đun nóng nhẹ với 3,73 ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (TT), pha loãng với nước vừa đủ 100 ml.

Xanh bromothymol

3,3'-Dibromothymolsulfonphthalein

4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden) bis (2-bromothymol) S,S-dioxyd

$C_{27}H_{28}Br_2O_5S = 624$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu hồng đỏ hay nâu. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol và các dung dịch kiềm loãng.

Vùng chuyển màu: pH 6,0 (vàng) đến pH 7,6 (xanh lam).

Dung dịch xanh bromothymol

Hòa tan 50 mg xanh bromothymol (TT) trong hỗn hợp gồm 4 ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (TT) và 20 ml ethanol 96 % (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT), thêm 0,3 ml dung dịch xanh bromothymol (TT), dung dịch có màu vàng. Khi thêm không quá 0,10 ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ), màu phải chuyển sang xanh lam.

Xanh thymol

Thymolsulfonphthalein

4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden) dithymol S,S-dioxyd

$C_{27}H_{30}O_5S = 466,6$

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu lam lục đến lục nâu. Khó tan trong nước, tan trong ethanol và các dung dịch kiềm loãng.

Vùng chuyển màu: pH 1,2 (đỏ) đến pH 2,8 (vàng); pH 8,0 (lục nâu) đến pH 9,6 (lam).

Dung dịch xanh thymol

Hòa tan 0,1 g xanh thymol (TT) trong hỗn hợp gồm 2,15 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT) và 20 ml ethanol 96 % (TT), thêm nước vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT), thêm 0,1 ml dung dịch xanh thymol (TT) và 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ), dung dịch có màu xanh lam. Khi thêm không quá 0,1 ml dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ), phải chuyển sang vàng.

Dung dịch xanh thymol trong dimethylformamid

Hòa tan 1 g *xanh thymol (TT)* trong *dimethylformamid (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch xanh thymol trong methanol

Hòa tan 0,3 g *xanh thymol (TT)* trong *methanol (TT)* vừa đủ 100 ml. Lọc, nếu cần.

Khoảng pH và màu chuyển của các chất chỉ thị

Chỉ thị	Khoảng pH	Màu chuyển
Đỏ cresol	0,2 đến 1,8	Đỏ - Vàng
	7,0 đến 8,8	Vàng - Đỏ
Xanh thymol	1,2 đến 2,8	Đỏ - Vàng
Tropeolin 00	1,3 đến 3,2	Đỏ - Vàng
Da cam methyl	3,0 đến 4,4	Đỏ - Vàng
Xanh bromophenol	2,8 đến 4,6	Vàng - Tím lam
Đỏ congo	3,0 đến 5,0	Lam - Hồng
Lục bromocresol	3,6 đến 5,2	Vàng - Lam
Đỏ methyl	4,4 đến 6,0	Đỏ - Vàng
Đỏ tia bromocresol	5,2 đến 6,8	Vàng - Tím lam
Xanh bromothymol	6,0 đến 7,6	Vàng - Lam
Đỏ trung tính	6,8 đến 8,0	Đỏ - Da cam
Đỏ phenol	6,8 đến 8,4	Vàng - Tím đỏ
Xanh thymol	8,0 đến 9,6	Lục nâu - Lam
Phenolphthalein	8,2 đến 10,0	Không màu - Đỏ
Thymolphthalein	9,3 đến 10,5	Không màu - Lam
Vàng alizarin	10,1 đến 12,1	Vàng - Tím hồng

2.2 CÁC DUNG DỊCH CHUẨN ĐỘ (CĐ)**Quy định chung**

Dung dịch chuẩn độ là dung dịch có nồng độ chính xác, biết trước dùng trong phân tích định lượng thể tích.

Nồng độ của dung dịch chuẩn độ thường được biểu thị bằng:

Nồng độ đương lượng gam (N): Số đương lượng gam của chất tan trong 1000 ml dung dịch.

Nồng độ mol (M): Số mol của chất tan trong 1000 ml dung dịch.

Tỷ số giữa nồng độ thực và nồng độ lý thuyết là hệ số hiệu chỉnh K, không được nằm ngoài giới hạn $1,00 \pm 0,10$. Nên dùng các dung dịch chuẩn độ với K trong khoảng từ 0,970 đến 1,030. Nồng độ dung dịch chuẩn độ được xác định với số lần chuẩn độ thích hợp

và độ lệch chuẩn tương đối của các kết quả thu được không được quá 0,2 %.

Phương pháp chung để pha chế các dung dịch chuẩn độ

Đối với mỗi loại dung dịch chuẩn độ, phương pháp pha chế và chuẩn hóa những dung dịch ở các nồng độ hay được sử dụng nhất sẽ được mô tả dưới đây. Các dung dịch đậm đặc hơn được pha chế và chuẩn hóa bằng cách tăng lượng thuốc thử lên tương ứng. Các dung dịch nước có nồng độ loãng hơn được điều chế bằng cách pha loãng chính xác một dung dịch đậm đặc hơn với *nước không có carbon dioxyl (TT)*. Hệ số hiệu chỉnh của những dung dịch này chính là hệ số hiệu chỉnh của dung dịch đã dùng để pha loãng. Các dung dịch nước có nồng độ mol nhỏ hơn 0,1 M phải được pha chế với *nước không có carbon dioxyl (TT)*. Khi pha chế các dung dịch kém bền vững như kali permanganat, natri thiosulfat, phải dùng nước mới đun sôi để nguội. Đối với dung dịch chuẩn độ được dùng trong định lượng mà điểm tương đương được xác định bằng phương pháp điện hóa thì kỹ thuật xác định điểm tương đương này cũng phải được dùng trong chuẩn hóa dung dịch đó.

Tất cả các dung dịch chuẩn độ phải được pha chế, chuẩn hóa và sử dụng ở nhiệt độ 25 °C. Nếu nhiệt độ khi định lượng khác với nhiệt độ lúc chuẩn hóa thì thể tích dung dịch chuẩn độ sẽ được hiệu chỉnh lại.

Dưới đây là phương pháp pha chế và chuẩn hóa các dung dịch chuẩn độ được dùng trong Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc:

Pha chế từ chất chuẩn độ gốc

Cân chính xác một lượng chất chuẩn độ gốc tương ứng với lượng chất lý thuyết tính theo nồng độ và thể tích dung dịch chuẩn độ cần pha, hòa tan trong dung môi chỉ dẫn vừa đủ thể tích.

Pha gần đúng rồi chuẩn hóa bằng chất chuẩn độ gốc hoặc bằng dung dịch chuẩn độ có hệ số K đã biết

Chất chuẩn độ gốc: Các hóa chất loại tinh khiết phân tích dưới đây, sau khi làm khô trong những điều kiện chỉ dẫn, được dùng làm chất chuẩn độ gốc để xác định K của dung dịch chuẩn độ:

Acid benzoic ($C_7H_6O_2$): Để 24 giờ trong bình hút ẩm chứa silicagel khan.

Acid sulfanilic ($C_6H_7NO_3S$): Sấy ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi.

Arsen trioxyl (As_2O_3): Để 24 giờ trong bình hút ẩm chứa silicagel khan.

Kali bromat ($KBrO_3$): Sấy ở 180 °C đến khối lượng không đổi.

Kali dicromat ($K_2Cr_2O_7$): Sấy ở 150 °C đến khối lượng không đổi.

Kali hydrophthalat ($C_8H_5O_4K$): Sấy ở 110 °C đến khối lượng không đổi.

Kali iodat (KIO_3): Sấy ở 130 °C đến khối lượng không đổi.

Kẽm hạt (Zn): Sử dụng loại có hàm lượng Zn không ít hơn 99,9 %.

Natri carbonat khan (Na_2CO_3): Nung ở 270 °C đến 300 °C đến khối lượng không đổi.

Natri clorid (NaCl): Nung ở 300 °C đến khối lượng không đổi.

Cách xác định K:

Chuẩn hóa bằng chất chuẩn độ gốc: Cân chính xác một lượng chất chuẩn độ gốc, hòa tan trong dung môi chỉ dẫn, chuẩn độ bằng dung dịch chuẩn độ mới pha, tính K theo công thức:

$$K = \frac{a}{T \times V} \quad (1)$$

Trong đó:

a là lượng chất chuẩn độ gốc đã cân (g);

T là độ chuẩn lý thuyết của chất chuẩn độ gốc (g/ml);

V là số ml dung dịch chuẩn độ đã dùng.

Chuẩn hóa bằng dung dịch chuẩn độ có hệ số K_0 đã biết.

Trong trường hợp này, K được tính theo công thức:

$$K = \frac{V_0 \times K_0 \times C_0}{V \times C} \quad (2)$$

Trong đó:

C_0 là nồng độ lý thuyết của dung dịch chuẩn độ dùng để chuẩn hóa;

K_0 là hệ số hiệu chỉnh của dung dịch chuẩn độ dùng để chuẩn hóa;

V_0 là số ml dung dịch chuẩn độ dùng để chuẩn hóa đã dùng;

C là nồng độ lý thuyết của dung dịch chuẩn độ cần pha;

V là số ml dung dịch chuẩn độ cần xác định hệ số K đã dùng.

CHÚ THÍCH:

Nếu K nằm ngoài giới hạn quy định, cần pha loãng hay làm đậm đặc dung dịch. Khi cần pha loãng, tích $(K - 1)$ nhân với 1000 là số ml dung môi cần thêm vào 1000 ml dung dịch. Trong trường hợp cần làm đậm đặc, tích $(1 - K)$ nhân với số g hóa chất cần lấy để pha 1000 ml dung dịch là số g hóa chất phải thêm vào 1000 ml dung dịch. Sau khi thêm dung môi hay hóa chất, xác định lại K của dung dịch thu được.

Pha loãng những dung dịch chuẩn độ có nồng độ cao

Pha loãng một cách chính xác dung dịch chuẩn độ có nồng độ cao thành dung dịch có nồng độ thấp hơn 2 lần, 5 lần, 10 lần v.v... bằng dung môi tương ứng. Hệ số hiệu chỉnh của dung dịch chuẩn độ pha được chính là hệ số hiệu chỉnh của dung dịch đã dùng để pha loãng. Những dung dịch chuẩn độ có nồng độ nhỏ hơn 0,1N chỉ được điều chế theo cách này ngay trước khi dùng.

Dùng ống chuẩn pha sẵn

Ống chuẩn pha sẵn (fixanal) chứa lượng hóa chất hay dung dịch hóa chất đủ để pha thành một thể tích dung dịch chuẩn độ quy định. Dùng dung môi pha chế theo chỉ dẫn ghi trên nhãn ống, thu được dung dịch chuẩn độ có K đã biết.

Cách pha chế một số dung dịch chuẩn độ

Dung dịch acid acetic 0,1 N

1 ml dung dịch chứa 0,00601 g acid acetic ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$).

Điều chế: Lấy 6,0 g acid acetic băng (TT) pha loãng với nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 25,0 ml dung dịch acid acetic đã điều chế, chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1N (CĐ), dùng 0,5 ml dung dịch phenolphthalein (TT) làm chỉ thị.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

× Dung dịch acid hydrocloric 1 N

1 ml dung dịch chứa 0,03646 g acid hydrocloric (HCl).

Điều chế: Lấy 85 ml acid hydrocloric đậm đặc (TT) pha loãng với nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Cân chính xác khoảng 0,50 g chất chuẩn gốc natri carbonat, hòa tan trong 50 ml nước, thêm 2 giọt dung dịch da cam methyl (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid hydrocloric đã điều chế cho đến khi chuyển sang màu hồng cam. Đun sôi 2 phút, để nguội, chuẩn độ tiếp đến màu hồng cam.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,053$ g/ml.

Dung dịch acid hydrocloric 0,5 N

1 ml dung dịch chứa 0,01823 g acid hydrocloric (HCl).

Điều chế: Lấy 42 ml acid hydrocloric đậm đặc (TT) pha loãng với nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong Dung dịch acid hydrocloric 1 N, dùng khoảng 0,25 g (cân chính xác) chất chuẩn gốc natri carbonat.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,0265$ g/ml.

Dung dịch acid hydrocloric 0,1 N

1 ml dung dịch chứa 0,003646 g acid hydrocloric (HCl).

Điều chế: Lấy 8,5 ml acid hydrocloric đậm đặc (TT) pha loãng với nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong Dung dịch acid hydrocloric 1 N, dùng khoảng 0,10 g (cân chính xác) chất chuẩn gốc natri carbonat.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,0053$ g/ml.

Dung dịch acid hydrocloric 0,1 N trong methanol

1 ml dung dịch chứa 0,003646 g acid hydrocloric (HCl).

Điều chế: Lấy 8,5 ml acid hydrocloric đậm đặc (TT) pha loãng với methanol (TT) vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong Dung dịch acid hydrocloric 0,1 N.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,0053$ g/ml.

Dung dịch acid percloric 0,1 N

1 ml dung dịch chứa 0,01005 g acid percloric (HClO_4).

Điều chế: Lấy 900 ml acid acetic băng (TT), thêm 8,5 ml acid percloric (TT), trộn đều và thêm 30 ml

anhydrid acetic (TT). Thêm *acid acetic băng (TT)* vừa đủ 1000 ml. Lắc đều, để yên 24 giờ. Xác định hàm lượng nước theo Phụ lục 10.3 mà không thêm methanol, và nếu cần thì điều chỉnh hàm lượng nước trong khoảng từ 0,1 % đến 0,2 % bằng *anhydrid acetic* hoặc *nước*. Sau đó, để yên 24 giờ.

Chuẩn độ: Cân chính xác khoảng 0,35 g chất chuẩn gốc kali hydrophthalat, hòa tan trong 50 ml *acid acetic khan (TT)* trong một bình nón có nút mài, đun nóng nhẹ nếu cần. Thêm 0,05 ml *dung dịch tím tinh thể (TT)* và chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric đã điều chế cho đến khi chuyển màu từ tím sang xanh lơ. Song song tiến hành một mẫu trắng.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,02042$ g/ml.

Ghi nhiệt độ khi tiến hành chuẩn hóa. Nếu nhiệt độ khi định lượng khác với nhiệt độ lúc chuẩn hóa dung dịch, thể tích dung dịch chuẩn độ acid perchloric dùng trong định lượng được hiệu chỉnh theo công thức sau:

$$V_C = V[1 + 0,0011(t_1 - t_2)]$$

Trong đó:

t_1 là nhiệt độ khi chuẩn hóa ;

t_2 là nhiệt độ khi định lượng;

V là thể tích đã dùng khi định lượng ;

V_C là thể tích hiệu chỉnh.

Các dung dịch acid perchloric nồng độ loãng hơn được điều chế bằng cách pha loãng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* với *acid acetic khan (TT)*.

Dung dịch acid sulfuric 1 N

1 ml dung dịch chứa 0,04904 g acid sulfuric (H_2SO_4).

Điều chế: Rót cẩn thận 30 ml *acid sulfuric (TT)* vào 200 ml *nước*, lắc đều, làm nguội đến nhiệt độ phòng và pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml, trộn đều.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch acid hydrochloric 1 N*.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,053$ g/ml.

Dung dịch acid sulfuric 0,5 N

1 ml dung dịch chứa 0,02452 g acid sulfuric (H_2SO_4).

Điều chế: Rót cẩn thận 15 ml *acid sulfuric (TT)* vào 200 ml *nước*, lắc đều, làm nguội đến nhiệt độ phòng và pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml, trộn đều.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch acid hydrochloric 0,5 N*.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,0265$ g/ml.

Dung dịch acid sulfuric 0,1 N

1 ml dung dịch chứa 0,004904 g acid sulfuric (H_2SO_4).

Điều chế: Pha loãng 100,0 ml *dung dịch acid sulfuric 1 N (CĐ)* với *nước* vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch acid hydrochloric 0,1 N*.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,0053$ g/ml.

Dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (Dung dịch amoni và ceri sulfat 0,1 M)

1 ml dung dịch chứa 0,06326 g amoni ceri sulfat $[(2(NH_4)_2SO_4.Ce(SO_4)_2.2H_2O)]$.

Điều chế: Hòa tan 65,0 g *amoni ceri sulfat (TT)* trong hỗn hợp 30 ml *acid sulfuric (TT)* và 500 ml *nước*, để nguội và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 25,0 ml dung dịch amoni ceri sulfat đã điều chế, thêm 2 g *kali iodid (TT)* và 150 ml *nước*.

Chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch amoni sulfocyanid 0,1 N (Dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N)

1 ml dung dịch chứa 0,007612 g amoni sulfocyanid (NH_4SCN).

Điều chế: Hòa tan 7,63 g *amoni sulfocyanid (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*, thêm 25 ml *nước*, 2 ml *acid nitric 2 M (TT)*, 2 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat (TT)* và chuẩn độ bằng dung dịch amoni sulfocyanid đã điều chế cho đến màu hồng cam.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Dung dịch bạc nitrat 0,1 N

1 ml dung dịch chứa 0,01699 g bạc nitrat ($AgNO_3$).

Điều chế: Hòa tan 17,5 g *bạc nitrat (TT)* trong *nước* và pha loãng vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Cân chính xác khoảng 0,12 g chất chuẩn gốc natri clorid, hòa tan trong 50 ml *nước*, thêm vài giọt *dung dịch kali cromat (TT)*. Chuẩn độ bằng dung dịch bạc nitrat đã điều chế đến khi xuất hiện tủa màu đỏ nhạt.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,005844$ g/ml.

Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch bari clorid 0,1 M

1 ml dung dịch chứa 0,02443 g bari clorid ($BaCl_2.2H_2O$).

Điều chế: Hòa tan 24,4 g *bari clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 10,0 ml dung dịch bari clorid đã điều chế, thêm 60 ml *nước*, 3 ml *dung dịch amoniac 13,5 M (TT)* và 0,5 mg đến 1,0 mg *đỏ tía phthalein (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)*. Khi dung dịch bắt đầu nhạt màu, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)* và chuẩn độ cho đến khi mất màu tím xanh.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Dung dịch brom 0,1 N

1 ml dung dịch chứa 0,00799 g brom (Br_2).

Điều chế: Hòa tan 2,7835 g chất chuẩn gốc kali bromat và 13 g *kali bromid (TT)* trong nước vừa đủ 1000 ml.
Bảo quản dung dịch trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch ceri sulfat 0,1 M

1 ml dung dịch chứa 0,04043 g ceri sulfat $[\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$.

Điều chế: Hòa tan 40,4 g *ceri sulfat (TT)* trong hỗn hợp gồm 50 ml *acid sulfuric (TT)* và 500 ml nước, để nguội và thêm nước đến vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M*, dùng 25,0 ml dung dịch ceri sulfat đã điều chế.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch chì nitrat 0,1 M

1 ml dung dịch chứa 0,03312 g chì nitrat $[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2]$.

Điều chế: Hòa tan 33,0 g *chì nitrat (TT)* trong nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml dung dịch chì nitrat đã điều chế, thêm 300 ml nước và chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ complexon cho chì (Phụ lục 10.5).

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Dung dịch chì nitrat 0,1 N (Dung dịch chì nitrat 0,05 M)

1 ml dung dịch chứa 0,01656 g chì nitrat $[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2]$.

Điều chế: Hòa tan 16,6 g *chì nitrat (TT)* trong nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 50,0 ml dung dịch chì nitrat đã điều chế, thêm 300 ml nước và chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ complexon cho chì (Phụ lục 10.5).

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Dung dịch iod 0,1 N

1 ml dung dịch chứa 0,01269 g iod (I_2).

Điều chế: Hòa tan 20 g *kali iodid (TT)* trong 50 ml nước, thêm 12,7 g *iod (TT)*, lắc cho tan và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 25,0 ml dung dịch iod đã điều chế, thêm 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và 30 ml nước. Chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch kali bromat 0,1 N (Dung dịch kali bromat 0,0167 M)

1 ml dung dịch chứa 0,002784 g kali bromat (KBrO_3).

Điều chế: Hòa tan 2,7840 g chất chuẩn gốc kali bromat trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali dicromat 0,1 N (Dung dịch kali dicromat 0,0167 M)

1 ml dung dịch chứa 0,004903 g kali dicromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$).

Điều chế: Hòa tan 4,9033 g chất chuẩn gốc kali dicromat trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydrophthalat 0,1 M

1 ml dung dịch chứa 0,02042 g kali hydrophthalat ($\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_4\text{K}$).

Điều chế: Hòa tan 20,42 g chất chuẩn gốc kali hydrophthalat trong khoảng 800 ml *acid acetic khan (TT)*, đun trên cách thủy cho tới khi tan hoàn toàn, tránh ẩm. Làm lạnh tới 20 °C, thêm *acid acetic khan (TT)* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 1 N

1 ml dung dịch chứa 0,05611 g kali hydroxyd (KOH).

Điều chế: Hòa tan 60 g *kali hydroxyd (TT)* trong nước không có carbon dioxyd (TT) vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 25,0 ml *dung dịch acid hydrochloric 1 N (CĐ)* và chuẩn độ bằng dung dịch kali hydroxyd đã điều chế, dùng 0,5 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Dung dịch kali hydroxyd 0,1 N

1 ml dung dịch chứa 0,00561 g kali hydroxyd (KOH).

Điều chế: Hòa tan 6 g *kali hydroxyd (TT)* trong nước không có carbon dioxyd (TT) vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch kali hydroxyd 1 N*, dùng 25,0 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (CĐ)*.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol

1 ml dung dịch chứa 0,02805 g kali hydroxyd (KOH).

Điều chế: Hòa tan 30 g *kali hydroxyd (TT)* trong 50 ml nước và thêm *ethanol 96 % không có aldehyd (TT)* vừa đủ 1000 ml. Để yên 24 giờ và gạn nhanh phần dung dịch trong sang lọ thủy tinh màu.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch kali hydroxyd 1 N*, dùng 25,0 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,5 N (CĐ)*.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch kali hydroxyd 0,1 N trong ethanol

1 ml dung dịch chứa 0,00561 g kali hydroxyd (KOH).

Điều chế: Hòa tan 6 g *kali hydroxyd (TT)* trong 50 ml nước và thêm *ethanol 96 % không có aldehyd (TT)* vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch kali hydroxyd 0,1 N*.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch kali iodat 0,05 M

1 ml dung dịch chứa 0,0107 g kali iodat (KIO_3).

Điều chế: Hòa tan 10,700 g chất chuẩn gốc kali iodat trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali iodat 0,1 N (Dung dịch kali iodat 1/60 M)

1 ml dung dịch chứa 0,003567 g kali iodat (KIO_3).

Điều chế: Hòa tan 3,5670 g chất chuẩn gốc kali iodat trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali permanganat 0,1 N (Dung dịch kali permanganat 0,02 M)

1 ml dung dịch chứa 0,00316 g kali permanganat (KMnO_4).

Điều chế: Hòa tan 3,20 g kali permanganat (TT) trong 1000 ml nước, đun nóng trên cách thủy 1 giờ, để nguội và lọc qua phễu thủy tinh xốp.

Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml dung dịch kali permanganat đã điều chế, thêm 2 g kali iodid (TT) và 10 ml dung dịch acid sulfuric loãng (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ), dùng 1 ml dung dịch hồ tinh bột (TT) làm chỉ thị. Song song tiến hành một mẫu trắng.

Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch kẽm clorid 0,05 M

1 ml dung dịch chứa 0,006815 g kẽm clorid (ZnCl_2).

Điều chế: Hòa tan 6,82 g kẽm clorid (TT) trong nước.

Nếu cần, thêm từng giọt dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT) cho đến khi hết đục và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml dung dịch kẽm clorid đã điều chế, thêm 5 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT) và chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ complexon cho kẽm (Phụ lục 10.5).

Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch kẽm sulfat 0,1 M

1 ml dung dịch chứa 0,02875 g kẽm sulfat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).

Điều chế: Hòa tan 29,0 g kẽm sulfat (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml dung dịch kẽm sulfat đã điều chế, thêm 5 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT) và chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ complexon cho kẽm (Phụ lục 10.5).

Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch lithi methoxyd 0,1 M

1 ml dung dịch chứa 0,003797 g lithi methoxyd (CH_3OLi).

Điều chế: Hòa tan từng lượng nhỏ 0,694 g lithi (TT) trong 150 ml methanol khan (TT), thêm toluen (TT) vừa đủ 1000 ml.

Xác định độ chuẩn ngay trước khi dùng theo cách sau: Lấy 10 ml dimethylformamid (TT), thêm 0,05 ml dung dịch xanh thymol 0,3% trong methanol (TT) và chuẩn độ bằng dung dịch lithi methoxyd đã điều chế tới màu xanh lam. Ngay lập tức thêm 0,2 g chất chuẩn gốc acid benzoic, lắc cho tan hoàn toàn và chuẩn độ bằng dung dịch lithi methoxyd đã điều chế cho tới khi màu

xanh lam xuất hiện trở lại. Tránh carbon dioxyd từ môi trường xung quanh trong suốt quá trình chuẩn độ. Số ml dung dịch lithi methoxyd đã điều chế dùng cho lần chuẩn độ sau là thể tích dung dịch chuẩn độ đã dùng (V).

Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,01221 \text{ g/ml}$.

Nên bảo quản trong lọ có gắn buret tự động và thiết bị chống ẩm, carbon dioxyd.

Dung dịch magnesi clorid 0,1 M

1 ml dung dịch chứa 0,02033 g magnesi clorid ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)

Điều chế: Hòa tan 20,33 g magnesi clorid (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy chính xác 25,0 ml dung dịch magnesi clorid đã điều chế và chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ complexon cho magnesi (Phụ lục 10.5).

Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch magnesi sulfat 0,05 M

1 ml dung dịch chứa 0,01233 g magnesi sulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).

Điều chế: Hòa tan 12,5 g magnesi sulfat (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy đúng 25,0 ml dung dịch magnesi sulfat đã điều chế và chuẩn độ bằng phương pháp complexon cho magnesi (Phụ lục 10.5).

Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch natri arsenit 0,1 M

1 ml dung dịch chứa 0,01299 g natri arsenit (NaAsO_2).

Điều chế: Hòa tan 4,946 g chất chuẩn gốc arsen trioxyd trong hỗn hợp gồm 20 ml dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT) và 20 ml nước, pha loãng với nước thành 400 ml và thêm dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT) cho đến khi trung tính với giấy quì. Hòa tan 2 g natri hydrocarbonat (TT) trong dung dịch thu được và thêm nước vừa đủ 500 ml.

Dung dịch natri hydroxyd 1 N

1 ml dung dịch chứa 0,0400 g natri hydroxyd (NaOH). Điều chế: Hòa tan 45,0 g natri hydroxyd (TT) trong 50 ml nước. Đậy kín bình bằng nút cao su, để yên qua đêm, gạn phần dung dịch trong ở trên và pha loãng với nước không có carbon dioxyd (TT) vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml dung dịch natri hydroxyd đã điều chế, thêm loại chỉ thị sẽ dùng trong phép định lượng mà dung dịch natri hydroxyd 1 N được sử dụng làm dung dịch chuẩn độ và chuẩn độ bằng dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ).

Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch natri hydroxyd 0,5 N

1 ml dung dịch chứa 0,0200 g natri hydroxyd (NaOH).

Điều chế: Hòa tan 25 g natri hydroxyd (TT) trong 25 ml nước và tiến hành như mô tả trong Dung dịch natri hydroxyd 1 N.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch natri hydroxyd 1 N*, chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrochloric 0,5 N (CĐ)*.

Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch natri hydroxyd 0,1 N ✕

1 ml dung dịch chứa 0,0040 g natri hydroxyd (NaOH).
Điều chế: Hòa tan 4,50 g *natri hydroxyd (TT)* trong 5 ml *nước* và tiến hành như mô tả trong *Dung dịch natri hydroxyd 1 N*.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch natri hydroxyd 1 N*, chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (CĐ)*.

Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol

1 ml dung dịch chứa 0,0040 g natri hydroxyd (NaOH).
Điều chế: Thêm 3,3 g *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* vào 250 ml *ethanol (TT)*.

Chuẩn độ: Hòa tan 0,2 g chất chuẩn gốc acid benzoic trong hỗn hợp gồm 10 ml *ethanol 96 % (TT)* và 2 ml *nước*. Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd trong ethanol đã điều chế, dùng 0,2 ml *dung dịch thymolphthalein (TT)* làm chỉ thị.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,01221$ g/ml.

Dung dịch natri methoxyd 0,1 M

1 ml dung dịch chứa 0,005402 g natri methoxyd (CH_3ONa).

Điều chế: Lấy 175 ml *methanol khan (TT)*, làm lạnh trong nước đá và thêm từng lượng nhỏ 2,5 g *natri (TT)* mới cắt. Khi natri tan hết, thêm *toluen (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Xác định độ chuẩn ngay trước khi dùng: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch lithi methoxyd 0,1 N*, chuẩn độ bằng dung dịch natri methoxyd đã điều chế.

Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,01221$ g/ml.

Nên bảo quản trong lọ có gắn buret tự động và thiết bị chống ẩm, carbon dioxyd.

Dung dịch natri nitrit 0,1 M

1 ml dung dịch chứa 0,0069 g natri nitrit (NaNO_2).

Điều chế: Hòa tan 7,30 g *natri nitrit (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Xác định độ chuẩn ngay trước khi dùng theo cách sau: Hòa tan 0,3 g chất chuẩn gốc acid sulfanilic trong 50 ml *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)*, thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh trong nước đá và chuẩn độ bằng dung dịch natri nitrit đã điều chế, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,01732$ g/ml.

Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch natri periodat 0,1 M

1 ml dung dịch chứa 0,02139 g natri periodat (NaIO_4).

Điều chế: Hòa tan 21,4 g *natri periodat (TT)* trong khoảng 500 ml *nước* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml dung dịch natri periodat đã điều chế cho vào bình nón nút mài, thêm 5 ml *acid perchloric (TT)*, đậy nắp bình, lắc. Điều chỉnh tới pH 6,4 bằng dung dịch bão hòa *natri hydrocarbonat (TT)*, thêm 10 ml *dung dịch kali iodid (TT)*, đậy nắp bình, lắc và để yên 2 phút. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri arsenit 0,1 M (CĐ)* cho đến màu vàng nhạt, thêm 2 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và chuẩn độ chậm cho tới mất màu hoàn toàn.

Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch natri thiosulfat 0,1 N

1 ml dung dịch chứa 0,02482 g natri thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

Điều chế: Hòa tan 25,0 g *natri thiosulfat (TT)* và 0,2 g *natri carbonat (TT)* trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml *dung dịch kali bromat 0,1 N (CĐ)*, thêm 40 ml *nước*, 10 ml *dung dịch kali iodid (TT)* và 5 ml *dung dịch acid hydrochloric 7 M (TT)*. Chuẩn độ bằng dung dịch natri thiosulfat đã điều chế, dùng 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.

Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M

1 ml dung dịch chứa 0,02595 g tetrabutylamoni hydroxyd ($\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{NO}$).

Điều chế: Hòa tan 40,0 g *tetrabutylamoni iodid (TT)* trong 90 ml *methanol khan (TT)*, thêm 20 g *bạc oxyd (TT)* nghiền mịn và lắc mạnh trong 1 giờ. Ly tâm vài ml hỗn hợp và thử phản ứng iodid của dung dịch trong ở trên. Nếu phản ứng dương tính, thêm 2 g *bạc oxyd (TT)* và lắc 30 phút. Lặp lại qui trình này cho đến khi hỗn hợp không còn iodid. Lọc hỗn hợp qua phễu lọc thủy tinh xóp, rửa bình và phễu lọc 3 lần, mỗi lần với 50 ml *toluen (TT)*. Thêm dịch rửa vào dịch lọc và thêm *toluen (TT)* vừa đủ 1000 ml. Cho luồng khí nitrogen không có carbon dioxyd sục 5 phút qua dung dịch.

Xác định độ chuẩn ngay trước khi dùng: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch lithi methoxyd 0,1 N*, chuẩn độ bằng dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd đã điều chế.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,01221$ g/ml.

Nên bảo quản trong lọ có gắn buret tự động và thiết bị chống ẩm, carbon dioxyd.

Dung dịch thủy ngân (II) nitrat 0,02 M

1 ml dung dịch chứa 0,006852 g thủy ngân (II) nitrat [$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$].

Điều chế: Hòa tan 6,85 g thủy ngân (II) nitrat (TT) trong 20 ml dung dịch acid nitric 1 M (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Cân chính xác khoảng 0,15 g chất chuẩn gốc natri clorid cho vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml nước, lắc cho tan hoàn toàn và thêm nước vừa đủ 100 ml, lắc đều. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được, thêm 40 ml nước. Chuẩn độ bằng dung dịch thủy ngân nitrat đã điều chế, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng điện cực chỉ thị platin hoặc thủy ngân và điện cực so sánh thủy ngân - thủy ngân (I) sulfat.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,002338$ g/ml.

Dung dịch Trilon B 0,05 M (Dung dịch natri edetat 0,05 M)

1 ml dung dịch chứa 0,01861 g Trilon B ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$).

Điều chế: Hòa tan 18,8 g Trilon B (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Cân chính xác khoảng 1,64 g chất chuẩn gốc kẽm hạt, hòa tan trong 20 ml dung dịch acid sulfuric loãng (TT), thêm nước vừa đủ 500 ml. Lấy 25,0 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml dung dịch đệm amoniac pH 10,0 (TT), khoảng 0,1 g hỗn hợp chỉ thị đen eriocrom T (TT) và 70 ml nước. Chuẩn độ bằng dung dịch Trilon B đã điều chế cho đến khi chuyển màu sang xanh lam.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1) trong đó $T = 0,003269$ g/ml.

Dung dịch Trilon B 0,1 M (Dung dịch natri edetat 0,1 M)

1 ml dung dịch chứa 0,03722 g Trilon B ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$).

Điều chế: Hòa tan 37,5 g Trilon B (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong Dung dịch Trilon B 0,05 M.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó $T = 0,00654$ g/ml.

2.3 CÁC DUNG DỊCH ĐỆM

Các dung dịch đệm được pha trong nước không có carbon dioxyd (TT).

Dung dịch đệm acetat pH 4,5

Hòa tan 77,1 g amoni acetat (TT) trong nước, thêm 70 ml acid acetic băng (TT), thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm acetat pH 4,7

Hòa tan 136,1 g natri acetat (TT) trong 500 ml nước. Trộn 250 ml dung dịch thu được với 250 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT). Lắc 2 lần với dung dịch dithizon 0,01 % trong cloroform (TT) mới pha và lọc. Lắc với carbon tetraclohid (TT) đến khi dịch chiết trở nên

không màu, lọc lớp nước để loại bỏ hết carbon tetraclohid.

Dung dịch đệm acetat pH 5,0

Thêm 100 ml dung dịch kali hydroxyd 0,1 M (TT) và khoảng 250 ml nước vào 120 ml dung dịch acid acetic 0,6 % (TT). Trộn đều, chỉnh pH tới 5,0 bằng dung dịch acid acetic 0,6 % (TT) hoặc dung dịch kali hydroxyd 0,1 M (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm acetat - edetat pH 5,5

Hòa tan 250 g amoni acetat (TT) và 15 g dinatri edetat (TT) trong 400 ml nước và thêm 125 ml acid acetic băng (TT).

Dung dịch đệm acetone

Hòa tan 8,15 g natri acetat (TT) và 42 g natri clorid (TT) trong nước, thêm 68 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT) và 150 ml acetone (TT), thêm nước vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm amoni carbonat 0,1 M pH 10,3

Hòa tan 7,91 g amoni cacbonat (TT) trong 800 ml nước. Điều chỉnh pH bằng dung dịch natri hydroxyd loãng (TT), thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm amoni clorid pH 9,5 (Đệm amoniac pH 9,5)

Hòa tan 33,5 g amoni clorid (TT) trong 150 ml nước, thêm 42 ml amoniac (TT), thêm nước vừa đủ 250 ml. Bảo quản trong đồ đựng bằng polyetylen.

Dung dịch đệm amoni clorid pH 10,4

Hòa tan 70 g amoni clorid (TT) trong 200 ml nước, thêm 330 ml amoniac (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH nếu cần tới 10,4 bằng amoniac (TT).

Dung dịch đệm borat kiềm

Dung dịch acid boric và kali clorid 0,2 N: Hòa tan 12,37 g acid boric (TT) và 14,91 g kali clorid (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch natri hydroxyd 0,2 N: Pha như mô tả trong dung dịch chuẩn độ.

Cách pha: Lấy 50 ml dung dịch acid boric và kali clorid 0,2 N, thêm lượng dung dịch natri hydroxyd 0,2 N như ghi trong bảng và thêm nước vừa đủ 200,0 ml.

pH	Số ml dung dịch natri hydroxyd 0,2 N
8,0	3,9
8,2	6,0
8,4	8,6
8,6	11,8
8,8	15,8
9,0	20,8
9,2	26,4
9,4	32,1
9,6	36,9
9,8	40,6
10,0	43,7

Dung dịch đệm borat 0,0015 M pH 8,0

Hòa tan 0,572 g *natri tetraborat (TT)* và 2,94 g *calci clorid (TT)* trong 800 ml nước, điều chỉnh tới pH 8,0 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm borat pH 10,4

Hòa tan 24,64 g *acid boric (TT)* trong 900 ml nước, điều chỉnh tới pH 10,4 bằng *dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT)* và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm citrat pH 5,0

Chuẩn bị dung dịch chứa *acid citric 2,01 %* và *natri hydroxyd 0,80 %*. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*.

Dung dịch đệm diethanolamin pH 10,0

Hòa tan 96,4 g *diethanolamin (TT)* trong nước vừa đủ 400 ml. Thêm 0,5 ml *dung dịch magnesi clorid 18,6 %*, điều chỉnh pH tới 10,0 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, thêm nước vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm đồng sulfat pH 4,0

Hòa tan 0,25 g *đồng (II) sulfat (TT)* và 4,5 g *amoni acetat (TT)* trong *dung dịch acid acetic* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm đồng sulfat pH 5,2

Hòa tan 15,22 g *đinatri hydrophosphat khan (TT)* trong nước vừa đủ 536 ml, thêm *dung dịch acid citric 2,1 %* đến khi pH trong khoảng từ 5,15 đến 5,25 (khoảng 464 ml). Trộn 985 ml dung dịch thu được với 15 ml *dung dịch đồng (II) sulfat 0,393 % (TT)*.

Dung dịch đệm glycin

Hòa tan 42 g *natri hydrocarbonat (TT)* và 50 g *kali hydrocarbonat (TT)* trong 180 ml nước. Thêm vào dung dịch thu được một dung dịch chứa 37,5 g *glycin (TT)* và 15 ml *amoniac (TT)* trong 180 ml nước. Thêm nước vừa đủ 500 ml và khuấy đều cho tới khi thu được dung dịch đồng nhất.

Dung dịch đệm HEPES pH 7,5

Hòa tan 2,38 g *acid 2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl]ethansulfonic* trong khoảng 90 ml nước, điều chỉnh pH bằng *dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT)* và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm imidazol pH 6,5

Hòa tan 6,81 g *imidazol (TT)*, 1,23 g *magnesi sulfat (TT)* và 0,73 g *calci sulfat (TT)* vào 752 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (CĐ)*. Điều chỉnh pH nếu cần và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm imidazol pH 7,3

Hòa tan 3,4 g *imidazol (TT)* và 5,8 g *natri clorid (TT)* trong nước, thêm 18,6 ml *dung dịch acid hydrocloric*

1 M (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH nếu cần.

Dung dịch đệm maleat pH 7,0

Hòa tan 10 g *natri clorid (TT)*; 6,06 g *tris(hydroxymethyl) methylamin (TT)* và 4,90 mg *anhydrid maleic (TT)* trong 900 ml nước. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch natri hydroxyd 17,0 %* và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Bảo quản ở 2 °C đến 8 °C trong 3 ngày.

Dung dịch đệm natri acetat pH 4,5

Hòa tan 63 g *natri acetat khan (TT)* trong nước, thêm 90 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)*, điều chỉnh pH đến 4,5 và thêm nước vừa đủ 1000ml.

Dung dịch đệm natri acetat pH 6,0

Hòa tan 4,1 g *natri acetat khan (TT)* trong 1000 ml nước, điều chỉnh pH đến 6,0 bằng *acid acetic băng (TT)*.

Dung dịch đệm natri citrat pH 7,8 (natri citrat 0,034 M, natri clorid 0,101 M)

Hòa tan 10 g *natri citrat (TT)* và 5,9 g *natri clorid (TT)* trong 900 ml, điều chỉnh pH bằng *acid hydrocloric (TT)* và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm pH 2,0

Hòa tan 6,57 g *kali clorid (TT)* trong nước, thêm 119 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (CĐ)* và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm pH 2,2

Trộn 6,7 ml *acid phosphoric (TT)* với 50 ml dung dịch 4 % (tt/tt) của *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm pH 2,5 (Đệm phosphat pH 2,5)

Hòa tan 100 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 800 ml nước, điều chỉnh tới pH 2,5 bằng *acid hydrocloric (TT)* và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm pH 2,5 số 1 (Đệm phosphat pH 2,5 số 1)

Thêm 5 ml *dung dịch acid phosphoric 2 M (TT)* vào 250 ml nước. Điều chỉnh tới pH 2,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* và pha loãng với nước vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm pH 3,0

Hòa tan 21,0 g *acid citric (TT)* trong 200 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, thêm nước vừa đủ 1000 ml. Pha loãng 40,3 ml dung dịch này thành 100 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Dung dịch đệm pH 3,7 (Đệm acetic - amoniac trong ethanol pH 3,7)

Thêm 60 ml *ethanol 96 % (TT)* và 20 ml nước vào 15 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)*. Điều chỉnh pH tới 3,7 bằng *dung dịch amoniac 10 M (TT)* và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm pH 5,2

Hòa tan 1,02 g *kali dihydrophthalat* (TT) trong 30 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (CĐ) và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Ở 20 °C dung dịch này có thể được sử dụng làm dung dịch pH chuẩn.

Dung dịch đệm pH 5,5

Hòa tan 54,4 g *natri acetat* (TT) trong 50 ml nước, làm nóng đến 35 °C nếu cần. Để nguội, thêm từ từ 10 ml *acid acetic khan* (TT), lắc đều và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm pH 6,5

Hòa tan 60,5 g *dinatri hydrophosphat* (TT) và 46 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong nước, thêm 100 ml *dung dịch dinatri edetat 0,02 M* (TT) và 20 mg *thủy ngân (II) clorid* (TT) và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm pH 7,0

Thêm vào 1000 ml dung dịch chứa *dinatri hydrophosphat 1,8 %* và *natri clorid 2,3 %* một lượng vừa đủ (khoảng 280 ml) dung dịch chứa *natri dihydrophosphat 0,78 %* và *natri clorid 2,3 %* để điều chỉnh pH. Hòa tan vào dung dịch thu được một lượng *natri azid* (TT) vừa đủ để được dung dịch có nồng độ 0,02 %.

Dung dịch đệm pH 7,2

Xem đệm phosphat pH 7,2.

Dung dịch đệm pH 7,4

Hòa tan 0,6 g *kali dihydrophosphat* (TT); 6,4 g *dinatri hydrophosphat* (TT) và 5,85 g *natri clorid* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH nếu cần.

Dung dịch đệm pH 8,0

Xem đệm phosphat pH 8,0.

Dung dịch đệm pH 8,0 (TT₁)

Hòa tan 20 g *dikali hydrophosphat* (TT) trong 900 ml nước, điều chỉnh pH bằng *acid phosphoric* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 2,0

Hòa tan 8,95 g *dinatri hydrophosphat khan* (TT) và 3,40 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH nếu cần bằng *acid phosphoric* (TT).

Dung dịch đệm phosphat pH 2,8

Hòa tan 7,8 g *natri dihydrophosphat khan* (TT) trong 900 ml nước, điều chỉnh pH tới 2,8 bằng *acid phosphoric* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 3,0

Trộn 0,7 ml *acid phosphoric* (TT) với 900 ml nước, điều chỉnh pH tới 3,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 3,0

Hòa tan 12 g *natri dihydrophosphat khan* (TT) trong nước, điều chỉnh pH bằng *dung dịch acid phosphoric 2 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 3,0 (TT₁)

Hòa tan 3,4 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong 900 ml nước. Điều chỉnh pH đến 3,0 bằng *acid phosphoric* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 3,2

Thêm 100 ml *dung dịch acid phosphoric 0,25 %* vào 900 ml *dung dịch natri dihydrophosphat 0,4 %*, điều chỉnh pH nếu cần.

Dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT₁)

Điều chỉnh pH của *dung dịch dinatri hydrophosphat 3,58 %* tới 3,2 bằng *dung dịch acid phosphoric 2 M* (TT). Pha loãng 100 ml dung dịch thu được thành 2000 ml với nước.

Dung dịch đệm phosphat pH 3,5

Hòa tan 68,0 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml, điều chỉnh pH bằng *acid phosphoric* (TT).

Dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 4,5

Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong 1000 ml nước, pH của dung dịch bằng 4,5.

Dung dịch đệm phosphat pH 5,0

Hòa tan 2,72 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong 800 ml nước. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch kali hydroxyd 1 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 5,5

Trộn 96,4 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 1,36 %* (TT) với 3,6 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 3,58 %* (TT).

Dung dịch đệm phosphat pH 5,6

Trộn 94,4 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,908 %* (TT) với 5,6 ml *dung dịch dikali hydrophosphat 1,16 %* (TT). Điều chỉnh pH nếu cần bằng một trong hai dung dịch thành phần.

Dung dịch đệm phosphat pH 5,8

Hòa tan 1,19 g *dinatri hydrophosphat dihydrat* (TT) và 8,25 g *kali dihydro phosphat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 6,0 (TT₁)

Hòa tan 6,8 g *natri dihydrophosphat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml và điều chỉnh pH bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M* (TT)

Dung dịch đệm phosphat pH 6,0 (TT₂)

Thêm 28,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M* (TT) vào 250 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 6,3

Hòa tan 15,6 g *natri dihydrophosphat* (TT) trong 900 ml nước, điều chỉnh pH tới 6,3 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 6,4

Hòa tan 2,5 g *dinatri hydrophosphat* (TT); 2,5 g *natri dihydrophosphat* (TT) và 8,2 g *natri clorid* (TT) trong 950 ml nước. Điều chỉnh pH nếu cần tới 6,4 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT) hoặc *dung dịch acid hydrocloric 1 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 6,5

Hòa tan 13,8 g *natri dihydrophosphat monohydrat* (TT) trong 900 ml nước. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch natri hydroxyd 40 %* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 6,8

Xem đệm citro-phosphat pH 6,8.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0

Xem đệm citro-phosphat pH 7,0.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT₁)

Xem đệm phosphat pH 7,0 hỗn hợp.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT₂)

Trộn 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 13,6 %* (TT) với 29,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT), thêm nước đến vừa đủ 100 ml. Điều chỉnh pH từ 6,9 đến 7,1.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT₃)

Hòa tan 5 g *kali dihydrophosphat* (TT) và 11 g *dikali hydrophosphat* (TT) trong 900 ml nước. Điều chỉnh pH tới 7,0 bằng *dung dịch acid phosphoric 2 M* (TT) hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT₄)

Hòa tan 28,4 g *dinatri hydrophosphat khan* (TT) và 18,2 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong nước vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT₅)

Hòa tan 28,4 g *dinatri hydrophosphat khan* (TT) trong 800 ml nước. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch acid phosphoric 30 %* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat 0,025 M pH 7,0

Trộn 1 thể tích *dung dịch đệm phosphat 0,063 M pH 7,0* (TT) với 1,5 thể tích nước.

Dung dịch đệm phosphat 0,03 M pH 7,0

Hòa tan 5,2 g *dikali hydrophosphat* (TT) trong 900 ml nước, điều chỉnh pH tới $7,0 \pm 0,1$ bằng *acid phosphoric* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 7,0

Trộn 34 ml nước với 100 ml *đệm phosphat hỗn hợp 0,067 M pH 7,0* (TT).

Dung dịch đệm phosphat 0,063 M pH 7,0

Hòa tan 5,18 g *dinatri hydrophosphat khan* (TT) và 3,65 g *natri dihydrophosphat monohydrat* (TT) trong

950 ml nước, chỉnh pH bằng *acid phosphoric* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,2

Xem đệm citro-phosphat pH 7,2.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,4

Thêm 250 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M* (TT) vào 393,4 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (TT).

Dung dịch đệm phosphat 0,33 M pH 7,5

Trộn 85 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 11,93 %* (TT) với 15 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 4,54 %* (TT). Điều chỉnh pH nếu cần.

Dung dịch đệm phosphat 0,02 M pH 8,0

Trộn 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M* (TT) với 46,8 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M* (TT), thêm nước vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 8,0

Hòa tan 0,523 g *kali dihydrophosphat* (TT) và 16,73 g *dikali hydrophosphat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat 1 M pH 8,0

Hòa tan 136,1 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong nước, điều chỉnh pH bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT), thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 9,0

Hòa tan 1,74 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong 80 ml nước, điều chỉnh pH nếu cần bằng *dung dịch kali hydroxyd 1 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm phosphat-citrat pH 5,5

Trộn 56,85 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat khan 2,84 %* (TT) và 43,15 ml *dung dịch acid citric 2,1 %* (TT).

Dung dịch đệm phosphat diethylamoni pH 6,0

Pha loãng 68 ml *acid phosphoric* (TT) thành 500 ml với nước. Thêm vào 25 ml *dung dịch này* 450 ml nước và 6 ml *diethylamin* (TT), điều chỉnh pH (nếu cần) trong khoảng 5,95 đến 6,05 bằng *diethylamin* (TT) hoặc *acid phosphoric* (TT) và thêm nước vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm phosphat octylamin pH 3,0

Pha loãng 3,32 ml *octylamin* (TT) tới 1000 ml, điều chỉnh pH tới 3,0 bằng *acid phosphoric* (TT) và lọc qua màng lọc có kích thước không quá 0,5 μm .

Dung dịch đệm phtalat pH 4,4

Hòa tan 2,042 g *kali hydrophthalat* (TT) trong 50 ml nước, thêm 7,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M* (CĐ), thêm nước vừa đủ 200 ml. Ở 20 °C, *dung dịch thu được* có thể được dùng như *dung dịch pH chuẩn*.

Dung dịch đệm phtalat 0,5 M pH 6,4

Hòa tan 100 g *kali hydrophthalat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH nếu cần bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M* (TT).

Dung dịch đệm succinat pH 4,6

Hòa tan 11,8 g *acid succinic* (TT) trong hỗn hợp của 600 ml *nước* và 82 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT) và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm sulfat pH 2,0

Dung dịch I: Hòa tan 132,1 g *amoni sulfat* (TT) trong *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch II: Thêm từ từ 14 ml *acid sulfuric* (TT) vào khoảng 400 ml *nước*, vừa thêm vừa khuấy và làm nguội. Để dung dịch nguội hoàn toàn, thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Trộn dung dịch I và II đồng thể tích, điều chỉnh pH nếu cần.

Dung dịch đệm tetrabutylamoni pH 7,0

Hòa tan 6,16 g *amoni acetat* (TT) trong hỗn hợp 15 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 40 %* và 185 ml *nước*. Điều chỉnh pH bằng *acid nitric* (TT).

Dung dịch đệm tris-acetat pH 8,5

Hòa tan 0,294 g *calci clorid* (TT) và 12,11 g *tris(hydroxymethyl)methylamin* (TT) trong *nước*. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch acid acetic 5 M* (TT) và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm tris-EDTA BSA pH 8,4

Hòa tan 6,1 g *tris(hydroxymethyl)methylamin* (TT), 2,8 g *dinatri edetat* (TT), 10,2 g *natri clorid* (TT) và 10 g *albumin bò* trong *nước*. Điều chỉnh pH tới 8,4 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M* (TT) và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm tris-glycin pH 8,3

Hòa tan 6 g *tris(hydroxymethyl)methylamin* (TT) và 28,8 g *glycin* (TT) trong *nước* vừa đủ 1000 ml. Pha loãng 1 thể tích của dung dịch thu được thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch đệm tris-hydroclorid pH 8,3

Hòa tan 9,0 g *tris(hydroxymethyl)aminomethan* (TT) trong 2,9 lít *nước*. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M* (TT), thêm *nước* vừa đủ 3 lít.

Dung dịch đệm tris-hydroclorid 1 M pH 6,8

Hòa tan 60,6 g *tris(hydroxymethyl)methylamin* (TT) trong 400 ml *nước*. Điều chỉnh pH bằng *acid hydrocloric* (TT), thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm tris-hydroclorid pH 8,0

Hòa tan 1,21 g *tris(hydroxymethyl)aminomethan* (TT) và 29,4 mg *calci clorid* (TT) trong *nước*. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M* (TT), thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm tris-hydroclorid 1,5 M pH 8,8

Hòa tan 90,8 g *tris(hydroxymethyl)methylamin* (TT) trong 400 ml *nước*. Điều chỉnh pH bằng *acid hydrocloric* (TT), thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl) aminomethan pH 7,4

Hòa tan 30,3 g *tris(hydroxymethyl)aminomethan* (TT) trong khoảng 200 ml *nước*. Thêm 183 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M* (TT), thêm *nước* vừa đủ 500 ml. Chú ý: pH của dung dịch thu được là 7,7 - 7,8 ở nhiệt độ phòng và 7,4 ở 37 °C. Dung dịch bền trong vài tháng ở nhiệt độ 4 °C.

Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl) aminomethan 1 M pH 8,5

Hòa tan 60,6 g *tris(hydroxymethyl)aminomethan* (TT) trong 40 ml *nước*, điều chỉnh pH tới 8,5 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 N* (TT), thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl) aminomethan-natri clorid pH 7,4

Hòa tan 0,1 g *albumin bò* trong hỗn hợp gồm 2 ml *dung dịch đệm tris(hydroxymethyl) aminomethan pH 7,4* (TT) và 50 ml *dung dịch natri clorid 5,84 mg/ml* (TT), thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch muối đệm pH 7,2

Hòa tan 8 g *natri clorid* (TT); 0,2g *kali clorid* (TT); 0,1g *calci clorid khan* (TT); 0,1 g *magnesi clorid* (TT); 3,18 g *dinatri hydrophosphat* (TT) và 0,2 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch salin đệm phosphat pH 6,4

Hòa tan 1,79 g *dinatri hydrophosphat* (TT), 1,36 g *kali dihydrophosphat* (TT) và 7,02 g *natri clorid* (TT) trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch salin đệm phosphat pH 6,8

Hòa tan 1,0 g *kali dihydrophosphat* (TT), 2,0 g *dikali hydrophosphat* (TT) và 8,5 g *natri clorid* (TT) trong 900 ml *nước*, điều chỉnh pH nếu cần và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch salin đệm phosphat - albumin pH 7,2

Hòa tan 10,75 g *dinatri hydrophosphat* (TT), 7,6 g *natri clorid* (TT) và 1,0 g *albumin bò* trong *nước* vừa đủ 1000 ml. Ngay trước khi sử dụng, điều chỉnh pH tới 7,2 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT) hoặc *dung dịch acid phosphoric 10 % (kl/kl)* (TT).

Dung dịch salin đệm phosphat - albumin pH 7,2 (TT₁)

Hòa tan 10,75 g *dinatri hydrophosphat* (TT), 7,6 g *natri clorid* (TT) và 10 g *albumin bò* trong *nước* vừa đủ 1000 ml. Ngay trước khi sử dụng, điều chỉnh pH tới 7,2 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT) hoặc *dung dịch acid phosphoric 10 % (kl/kl)* (TT).

Dung dịch salin đệm phosphat pH 7,4

Hòa tan 2,38 g *dinatri hydrophosphat* (TT), 0,19 g *kali dihydrophosphat* (TT) và 8,0 g *natri clorid* (TT) trong *nước* vừa đủ 1000 ml, điều chỉnh pH nếu cần.

Đệm acid acetic - amoni acetat (Dung dịch đệm acid acetic - amoni acetat)

Hòa tan 77,1 g *amoni acetat* (TT) trong nước, thêm 57 ml *acid acetic băng* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm acetat pH 2,45

Trộn 200 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M* (TT) với 200 ml *dung dịch natri acetat 1 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh tới pH 2,45 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M* (TT) hoặc bằng *dung dịch natri acetat 1M* (TT) ngay trước khi dùng.

Đệm acetat pH 2,8

Hòa tan 4 g *natri acetat khan* (TT) trong khoảng 840 ml nước, điều chỉnh tới pH 2,8 bằng *acid acetic băng* (TT) (dùng khoảng 155 ml), thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm acetat pH 3,4

Trộn 5 thể tích *dung dịch natri acetat 0,1 M* (TT) với 95 thể tích *dung dịch acid acetic 0,1 M* (TT).

Đệm acetat pH 3,5 (Dung dịch đệm acetat pH 3,5)

Hòa tan 25 g *amoni acetat* (TT) trong 25 ml nước, thêm 38 ml *dung dịch acid hydroclorid 7 M* (TT). Điều chỉnh tới pH 3,5 bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M* (TT) hoặc bằng *dung dịch amoniac 6 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Đệm acetat pH 3,7

Hòa tan 10 g *natri acetat khan* (TT) trong 300 ml nước, điều chỉnh tới pH 3,7 bằng *acid acetic băng* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml. Nếu cần thiết, điều chỉnh lại tới pH 3,7 bằng *acid acetic băng* (TT) hoặc bằng *natri acetat khan* (TT) trước khi dùng.

Đệm acetat pH 4,4 (Dung dịch đệm acetat pH 4,4)

Hòa tan 136 g *natri acetat* (TT) và 77 g *amoni acetat* (TT) trong nước, thêm nước vừa đủ 1000 ml. Thêm 250 ml *acid acetic băng* (TT), trộn đều.

Đệm acetat pH 4,6 (Dung dịch đệm acetat pH 4,6)

Hòa tan 5,4 g *natri acetat* (TT) trong 50 ml nước, thêm 2,4 g *acid acetic băng* (TT) và thêm nước vừa đủ 100 ml. Điều chỉnh pH nếu cần.

Đệm acetat pH 5,0

Hòa tan 13,6 g *natri acetat* (TT) và 6 ml *acid acetic băng* (TT) trong nước và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm acetat pH 6,0 (Dung dịch đệm acetat pH 6,0)

Hòa tan 100 g *amoni acetat* (TT) trong 300 ml nước, thêm 4,1 ml *acid acetic băng* (TT). Nếu cần, điều chỉnh pH bằng *dung dịch amoniac 10 M* (TT) hay *dung dịch acid acetic 5 M* (TT), thêm nước vừa đủ 500 ml.

Đệm acid thiobarbituric-citrat

Hòa tan 5,0 g *acid thiobarbituric* (TT) trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 4 M* (TT) và thêm nước vừa

đủ 500 ml. Hòa tan 37 g *natri citrat* (TT) trong 32 ml *acid hydrocloric* (TT) và thêm nước vừa đủ 250 ml. Trộn hai dung dịch và điều chỉnh pH tới 2,0.

Đệm amoniac - amoni clorid

Hòa tan 67,5 g *amoni clorid* (TT) trong nước, thêm 570 ml *amoniac* (TT), thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm amoniac pH 10,0 (Dung dịch đệm amoni clorid pH 10,0)

Hòa tan 5,4 g *amoni clorid* (TT) trong 20 ml nước, thêm 35 ml *dung dịch amoniac 10 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Đệm amoniac pH 10,9 (Dung dịch đệm pH 10,9)

Hòa tan 67,5 g *amoni clorid* (TT) trong *dung dịch amoniac 10 M* (TT) vừa đủ 1000 ml.

Đệm amoniac pH 10,9 pha loãng

Pha loãng 2 ml *đệm amoniac pH 10,9* (TT) thành 1000 ml với nước.

Đệm barbiton pH 7,4 (Dung dịch đệm barbital pH 7,4)

Trộn 50 ml *dung dịch chứa natri acetat 1,944 %* và *natri barbiton 2,964 %* với 50,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (TT), thêm 20 ml *dung dịch natri clorid 8,5 %* (TT) và thêm nước vừa đủ 250 ml.

Đệm barbiton pH 8,4 (Dung dịch đệm barbital pH 8,4)

Hòa tan 8,25 g *natri barbiton* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm barbiton pH 8,6 (Dung dịch đệm barbital pH 8,6)

Hòa tan 1,38 g *barbiton* (TT), 8,76g *natri barbiton* (TT) và 0,38 g *calci lactat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm borat pH 7,5 (Dung dịch đệm borat pH 7,5)

Hòa tan 2,5 g *natri clorid* (TT), 2,85 g *natri tetraborat* (TT) và 10,5 g *acid boric* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml. Điều chỉnh pH nếu cần. Bảo quản dung dịch từ 2 °C đến 8 °C.

Đệm borat pH 8,0

Thêm 3,97 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M* (CĐ) vào 50 ml *dung dịch chứa 0,6189 g acid boric* (TT) và 0,7456 g *kali clorid* (TT), thêm nước vừa đủ 200 ml. Ở 20 °C dung dịch này có thể được sử dụng làm dung dịch pH chuẩn.

Đệm borat pH 9,0 (Dung dịch đệm pH 9,0)

Dung dịch A: Hòa tan 6,18 g *acid boric* (TT) trong *dung dịch kali clorid 0,1M* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch B: *Dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (TT).

Trộn 1000 ml *dung dịch A* với 420 ml *dung dịch B*.

Ở 20 °C dung dịch này có thể được sử dụng làm dung dịch pH chuẩn.

Đệm borat pH 9,6

Thêm 36,85 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M* (CĐ) vào 50 ml *dung dịch chứa 0,6189 g acid boric* (TT) và

0,7456 g *kali clorid* (TT), thêm nước vừa đủ 200 ml. Ở 20 °C dung dịch này có thể được sử dụng làm dung dịch pH chuẩn.

Đệm boric pH 9,0 (Dung dịch đệm pH 9,0)

Hòa tan 6,20 g *acid boric* (TT) trong 500 ml nước, điều chỉnh tới pH 9,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT) (khoảng 41,5 ml) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm carbonat pH 9,7

Hòa tan 8,4 g *natri hydrocarbonat* (TT) và 10,6 g *natri carbonat* (TT) trong nước vừa đủ 500 ml.

Đệm citro - phosphat pH 4,5

Thêm vào 30 thể tích *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,2 M* (TT) một lượng vừa đủ *dung dịch acid citric 0,1 M* (TT) để được pH 4,5 (khoảng 36 thể tích).

Đệm citro - phosphat pH 5,0

Trộn 48,5 ml *dung dịch acid citric 0,1 M* (TT) với lượng vừa đủ *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,2 M* (TT) để được 100 ml.

Đệm citro - phosphat pH 6,0 (Dung dịch đệm phosphat pH 6,0)

Trộn 63,2 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 7,15 %* (TT) với 36,8 ml *dung dịch acid citric 2,1 %* (TT).

Đệm citro - phosphat pH 6,5

Trộn 29,0 ml *dung dịch acid citric 0,1 M* (TT) với lượng vừa đủ *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,2 M* (TT) để được 100 ml.

Đệm citro - phosphat pH 6,8 (Dung dịch đệm phosphat pH 6,8)

Trộn 77,3 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 7,15 %* (TT) với 22,7 ml *dung dịch acid citric 2,1 %* (TT).

Đệm citro - phosphat pH 7,0 (Dung dịch đệm phosphat pH 7,0)

Trộn 82,4 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 7,15 %* (TT) với 17,6 ml *dung dịch acid citric 2,1 %* (TT).

Đệm citro - phosphat pH 7,2 (Dung dịch đệm phosphat pH 7,2)

Trộn 82,4 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 7,15 %* (TT) với 13 ml *dung dịch acid citric 2,1 %* (TT).

Đệm citro - phosphat pH 7,6

Hòa tan 67,1 g *dinatri hydrophosphat* (TT) và 1,33 g *acid citric* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm clorid 0,1 M pH 2,0 (Dung dịch đệm pH 2,0)

Hòa tan 6,57 g *kali clorid* (TT) trong nước, thêm 119 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (CĐ) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm glycin pH 2,9

Hòa tan 6,0g *glycin* (TT) và 4,68 g *natri clorid* (TT) trong 10 lít nước. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M* (TT) (khoảng 30 ml).

Đệm glycin pH 11,3

Trộn dung dịch chứa *glycin 0,75 %* và *natri clorid 0,58 %* với đồng thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (TT), điều chỉnh pH nếu cần.

Đệm kali phtalat pH 5,6 (Dung dịch đệm kali biphtalat pH 5,6)

Hòa tan 4,085 g *kali biphtalat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml. Lấy 50 ml dung dịch thu được, thêm 38,8 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 N* (CĐ) và thêm nước vừa đủ 200 ml.

Đệm hiệu chỉnh lực ion toàn phần

Hòa tan 58,5 g *natri clorid* (TT), 57 ml *acid acetic băng* (TT), 61,5 g *natri acetat* (TT) và 5,0 g *acid (cyclohexylendinitril) tetraacetic* (TT) trong nước vừa đủ 500 ml. Điều chỉnh tới pH 5,0 đến 5,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 30 %* (TT), thêm nước cất vừa đủ 1000 ml.

Đệm hiệu chỉnh lực ion toàn phần (TT₁)

Dung dịch A: Hòa tan 210 g *acid citric* (TT) trong 400 ml nước, chỉnh pH tới 7,0 bằng *amoniac đặc* (TT), thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch B: Hòa tan 132 g *amoni phosphat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch C: Thêm khoảng 200 ml *amoniac* (TT) vào hỗn dịch của 292 g *acid (ethylendinitril) tetraacetic* (TT) trong khoảng 500 ml nước để hòa tan. Điều chỉnh pH tới 6 - 7 bằng *amoniac đậm đặc* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Trộn đồng thể tích ba dung dịch A, B và C rồi điều chỉnh pH tới 7,5 bằng *amoniac đậm đặc* (TT).

Đệm phosphat chuẩn 0,025 M

Hòa tan 3,40 g *kali dihydrophosphat* (TT) và 3,55 g *dinatri hydrophosphat khan* (TT), cả hai đã được sấy khô ở 110 °C đến 130 °C trong 2 giờ, trong nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm phosphat hỗn hợp pH 4,0

Hòa tan 5,04 g *dinatri hydrophosphat* (TT) và 3,01 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH bằng *acid acetic băng* (TT).

Đệm phosphat hỗn hợp pH 5,4

Hòa tan 1,76 g *dinatri hydrophosphat* (TT) và 13,61 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH nếu cần bằng *dung dịch acid phosphoric 0,05 M* (TT).

Đệm phosphat hỗn hợp pH 6,8

Hòa tan 28,80 g *dinatri hydrophosphat* (TT) và 11,45 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm phosphat hỗn hợp 0,2 M pH 6,8 (Dung dịch đệm phosphat pH 6,8 số 1)

Trộn 51 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 2,72 %* (TT) với 49 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 7,16 %* (TT)

và điều chỉnh pH nếu cần. Bảo quản dung dịch ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Đệm phosphat hỗn hợp pH 7,0

Hòa tan 0,50 g *dinatri hydrophosphat khan* (TT) và 0,301 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm phosphat hỗn hợp 0,067 M pH 7,0 (Dung dịch đệm phosphat 0,067 M pH 7,0)

Trộn 38,9 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,908 %* (TT) với 61,1 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 2,38 %* (TT) và điều chỉnh pH nếu cần.

Đệm phosphat hỗn hợp 0,1 M pH 7,0 (Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 7,0)

Hòa tan 1,361 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml. Chính pH bằng *dung dịch dinatri hydrophosphat 3,5 %* (TT).

Đệm phosphat hỗn hợp pH 10

Thêm 6 ml *dung dịch natri phosphat 0,25 M* (TT) vào 100 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,2 M* (TT).

Đệm phosphat pH 3,0

Hòa tan 34 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong 250 ml nước. Điều chỉnh pH đến 3,0 bằng *acid phosphoric* (TT).

Đệm phosphat pH 3,5 (Dung dịch đệm phosphat pH 3,5)

Hòa tan 68 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong 1000 ml nước. Điều chỉnh pH đến 3,5 bằng *acid phosphoric* (TT).

Đệm phosphat pH 4,0

Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong 700 ml nước. Điều chỉnh pH nếu cần bằng *dung dịch acid phosphoric 10 %* (TT), thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm phosphat pH 4,75

Pha loãng 100 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,5 M* (TT) thành 800 ml với nước. Điều chỉnh pH tới 4,75 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm phosphat pH 4,9

Hòa tan 40 g *natri dihydrophosphat* (TT) và 1,2 g *natri hydroxyd* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml. Điều chỉnh pH nếu cần bằng *dung dịch acid sulfuric 1 M* (TT) hoặc *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT).

Đệm phosphat pH 6,0 (Dung dịch đệm phosphat hỗn hợp pH 6,0)

Hòa tan 2,0 g *dikali hydrophosphat* (TT) và 8,0 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH đến 6,0 bằng *acid phosphoric* (TT) hoặc bằng *dung dịch kali hydroxyd 30 %* (TT).

Đệm phosphat 0,2 M pH 7,5 (Dung dịch đệm phosphat 0,2 M pH 7,5)

Hòa tan 27,22 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong 930 ml nước. Chính pH đến 7,5 bằng *dung dịch kali hydroxyd 30 %* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

(Các) Đệm phosphat chuẩn

Các đệm phosphat chuẩn pH từ 5,8 đến 8,0 được pha bằng cách trộn 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M* (TT) với lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,2 N* (CĐ) như chỉ dẫn trong Bảng 2.3 và thêm nước vừa đủ 200 ml.

Ở 20 °C các dung dịch này có thể được sử dụng làm các dung dịch pH chuẩn, nhưng không được dùng để chuẩn hóa máy đo pH.

Bảng 2.3

pH	Số ml dung dịch natri hydroxyd 0,2 N
5,8	3,72
6,0	5,70
6,2	8,60
6,4	12,60
6,6	17,80
6,8	23,65
7,0	29,63
7,2	35,00
7,4	39,50
7,6	42,80
7,8	45,20
8,0	46,80

Đệm phthalat pH 3,6 (Dung dịch đệm pH 3,6)

Thêm 11,94 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,2 N* (CĐ) vào 250 ml *dung dịch kali hydrophthalat 0,2 M* (TT), thêm nước vừa đủ 1000 ml. Ở 20 °C, dung dịch thu được có thể được dùng như dung dịch pH chuẩn.

Đệm tris-clorid pH 7,4 [Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan - natri clorid pH 7,4]

Hòa tan 8,77g *natri clorid* (TT) và 6,08 g *tris(hydroxymethyl)methylamin* (TT) trong 500 ml nước. Thêm 10 g *albumin bò*. Điều chỉnh pH tới 7,4 bằng *acid hydrocloric* (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm tris-clorid pH 7,5 [Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan pH 7,5]

Hòa tan 5,27g *natri clorid* (TT) và 7,27 g *tris(hydroxymethyl)methylamin* (TT) trong nước. Điều chỉnh pH nếu cần và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm tris-clorid pH 7,5 số 1 (Dung dịch đệm tris-hydroclorid 0,05 M pH 7,5)

Hòa tan 6,057 g *tris(hydroxymethyl)methylamin* (TT) trong nước. Điều chỉnh pH bằng *acid hydrocloric* (TT) nếu cần và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Đệm tris-clorid pH 8,1 [Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan pH 8,1]

Hòa tan 0,294 g *calci clorid* (TT) và 0,969 g *tris(hydroxymethyl)methylamin* (TT) trong nước. Điều chỉnh pH tới 8,1 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Đệm tris-clorid pH 8,6

Hòa tan 2,4 g *natri clorid* (TT) và 2,0 g *tris(hydroxymethyl)methylamin* (TT) trong khoảng 100 ml nước. Điều chỉnh pH tới 8,6 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT) hoặc *dung dịch acid hydrocloric 1 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 200 ml.

Đệm tris-EDTA pH 8,4 [Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan EDTA pH 8,4]

Hòa tan 5,12 g *natri clorid* (TT), 3,03 g *tris(hydroxymethyl)methylamin* (TT) và 1,4 g *dinatri edetat* (TT) trong 250 ml nước. Điều chỉnh pH tới 8,4 bằng *acid hydrocloric* (TT) và thêm nước vừa đủ 500 ml.

2.4 CÁC DUNG DỊCH MẪU

Các dung dịch sau đây được sử dụng làm mẫu so sánh trong các phép thử giới hạn tạp chất:

Dung dịch acetaldehyd mẫu 100 phần triệu C_2H_4O trong isopropanol

Hòa tan 1,0 g *acetaldehyd* (TT) trong *isopropanol* (TT) vừa đủ 100 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 500,0 ml bằng *isopropanol* (TT) ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch acetaldehyd mẫu 100 phần triệu C_2H_4O trong nước

Hòa tan 1,0 g *acetaldehyd* (TT) trong nước vừa đủ 100 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 500,0 ml bằng nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4

Pha loãng 10,0 ml *dung dịch amoni clorid 0,0741 %* (TT) thành 25,0 ml bằng nước.

Dung dịch amoni mẫu 2,5 phần triệu NH_4

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch amoni clorid 0,0741 %* (TT) thành 100 ml bằng nước.

Dung dịch amoni mẫu 1 phần triệu NH_4

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch amoni mẫu 2,5 phần triệu NH_4* (TT) thành 2,5 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch antimony mẫu 100 phần triệu Sb

Hòa tan 0,274 g *kali antimony tartrat* (TT) trong 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M* (TT). Pha loãng dung dịch thu được thành 1000 ml với nước.

Dung dịch antimony mẫu 1 phần triệu Sb

Hòa tan 0,274 g *kali antimony tartrat* (TT) trong 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 7 M* (TT). Pha loãng

dung dịch thu được thành 100 ml với nước. Thêm vào 10 ml dung dịch này 200 ml *dung dịch acid hydrocloric 7 M* (TT) và pha loãng thành 1000 ml với nước. Thêm vào 100 ml dung dịch này 300 ml *dung dịch acid hydrocloric 7 M* (TT) và pha loãng thành 1000 ml với nước. Chuẩn bị các dung dịch pha loãng ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch arsen mẫu 1000 phần triệu As

Hòa tan 0,330 g *arsen trioxyd* (TT) trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT) và thêm nước vừa đủ 250 ml.

Dung dịch arsen mẫu 10 phần triệu As

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch arsen mẫu 1000 phần triệu As* (TT) thành 100 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch arsen mẫu 10 phần triệu As* (TT) thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch arsen mẫu 0,1 phần triệu As

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As* (TT) thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch bari mẫu 1000 phần triệu Ba

Hòa tan 1,778 g *bari clorid* (TT) trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch bari mẫu 50 phần triệu Ba

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch bari clorid 0,178 %* (TT) thành 20 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch bạc mẫu 5 phần triệu Ag

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch bạc nitrat 0,079 %* (TT) thành 100 thể tích với nước.

Dung dịch bismuth mẫu 100 phần triệu Bi

Hòa tan 0,500 g *bismuth* (TT) tương ứng với 50 ml *acid nitric* (TT) và thêm nước vừa đủ 500 ml. Pha loãng 1 thể tích dung dịch thu được thành 10 thể tích với *dung dịch acid nitric loãng* (TT) ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch cadmi mẫu 1000 phần triệu Cd

Hòa tan một lượng *cadmi* (TT) chứa 0,100 g Cd trong một lượng tối thiểu hỗn hợp đồng thể tích của *acid hydrocloric* (TT) với nước và thêm *dung dịch acid hydrocloric 1 %* (TT) vừa đủ 100 ml.

Dung dịch cadmi mẫu 10 phần triệu Cd

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch cadmi mẫu 1000 phần triệu Cd* (TT) thành 100 thể tích với *dung dịch acid hydrocloric 1 %* (TT) ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch calci mẫu 1000 phần triệu Ca

Hòa tan 0,624 g *calci carbonat* (TT) đã sấy khô ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi trong

nước có chứa 3 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)* và thêm nước vừa đủ 250 ml.

Dung dịch calci mẫu 400 phần triệu Ca

Hòa tan 1 g *calci carbonat (TT)* trong 23 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và thêm nước vừa đủ 100 ml. Pha loãng 1 thể tích *dung dịch* thu được thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca trong nước

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch calci mẫu 1000 phần triệu Ca (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca trong nước số 1

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch calci clorid khan* chứa 0,2769 % CaCl_2 trong *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca trong ethanol 96 %

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch calci mẫu 1000 phần triệu Ca (TT)* thành 10 thể tích với ethanol 96 % (TT) ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch calci mẫu 10 phần triệu Ca

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch calci mẫu 1000 phần triệu Ca (TT)* thành 100 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb

Hòa tan 0,400 g *chì (II) nitrat (TT)* trong nước vừa đủ 250 ml.

Dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb trong acid nitric không có chì

Hòa tan 0,400 g *chì (II) nitrat (TT)* trong *dung dịch acid nitric loãng không có chì (TT)* vừa đủ 250 ml.

Dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch chì mẫu 20 phần triệu Pb

Hòa tan 0,80 g *chì (II) nitrat (TT)* trong nước có chứa 2 ml *acid nitric (TT)* và thêm nước vừa đủ 250 ml. Pha loãng 1 thể tích *dung dịch* thu được thành 100 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb trong acid nitric không có chì

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb trong acid nitric không có chì (TT)* thành 100

thể tích với *acid nitric không có chì (TT)*. Sử dụng trong vòng một tuần.

Dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* thành 50 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* thành 100 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch chì mẫu 0,5 phần triệu Pb trong acid nitric không có chì

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb trong acid nitric không có chì (TT)* thành 20 thể tích với *acid nitric không có chì (TT)*. Sử dụng trong vòng một ngày.

Dung dịch chì mẫu 0,1 phần triệu Pb

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch clorid mẫu 500 phần triệu Cl

Hòa tan 0,0824 g *natri clorid (TT)* đã sấy khô ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch clorid mẫu 50 phần triệu Cl

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch clorid mẫu 500 phần triệu Cl (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch clorid mẫu 8 phần triệu Cl

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch natri clorid 0,132 % (TT)* thành 100 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch clorid mẫu 500 phần triệu Cl (TT)* thành 100 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch cobalt mẫu 100 phần triệu Co

Hòa tan 0,494 g *cobalt nitrat (TT)* trong 500 ml *dung dịch acid nitric 1 M (TT)* và pha loãng *dung dịch* trong thu được thành 1000 ml với nước.

Dung dịch crom mẫu 1000 phần triệu Cr

Hòa tan 2,82 g *kali cromat (TT)* đã sấy khô đến khối lượng không đổi trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch crom mẫu 100 phần triệu Cr

Hòa tan 0,283 g *kali cromat (TT)* đã sấy khô đến khối lượng không đổi trong nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch crom mẫu 0,1 phần triệu Cr

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch crom mẫu 100 phần triệu Cr (TT)* thành 1000 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch digitoxin mẫu

Hòa tan 0,1250 g *digitoxin* (TT) trong *acid acetic băng* (TT) vừa đủ 100 ml. Pha loãng 4 ml này thành 100 ml với *acid acetic băng* (TT). Thêm 3 ml *nước* vào 25 ml dung dịch thu được, lắc đều.

Dung dịch đồng mẫu 1000 phần triệu Cu

Hòa tan 0,393 g *đồng sulfat* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đồng mẫu 10 phần triệu Cu

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch đồng mẫu 1000 phần triệu Cu* (TT) thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch đồng mẫu 0,1 phần triệu Cu

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch đồng mẫu 10 phần triệu Cu* (TT) thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch fluorid mẫu 10 phần triệu F

Hòa tan 0,0442 g *natri fluorid* (TT) đã sấy 12 giờ ở 300 °C trong *nước* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 1 thể tích dung dịch thu được thành 20 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng. Bảo quản dung dịch đặc trong đồ đựng bằng polyethylen.

Dung dịch fluorid mẫu 1 phần triệu F

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch fluorid mẫu 10 phần triệu F* (TT) thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch formaldehyd mẫu 5 phần triệu CH₂O

Pha loãng 1 thể tích dung dịch chứa 3 g *formaldehyd* (TT) trong 1000 ml thành 200 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch germani mẫu 100 phần triệu Ge

Hòa tan một lượng *amoni hexafluorogermanat* (TT) tương ứng với 0,307 g (NH₄)₂GeF₆ trong *dung dịch acid hydrofluoric 0,01 %* (TT) và pha loãng dung dịch trong thu được thành 1000 ml với *nước*.

Dung dịch glucose mẫu

Hòa tan 0,1 g *glucose* (TT) trong *dung dịch acid benzoic bão hoà trong nước* (TT) vừa đủ 100 ml. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 100 ml với *nước*. Dung dịch glucose mẫu chứa 20 µg glucose trong 1 ml.

Dung dịch glyoxal mẫu 20 phần triệu C₂H₂O₂

Pha loãng một lượng *dung dịch glyoxal* (TT) chứa 0,200 g C₂H₂O₂ thành 100 ml với *ethanol tuyệt đối* (TT). Pha loãng 1 thể tích dung dịch thu được thành 100 thể tích với *ethanol tuyệt đối* (TT) ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch glyoxal mẫu 2 phần triệu C₂H₂O₂

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch glyoxal mẫu 20 phần triệu C₂H₂O₂* (TT) thành 10 thể tích với *ethanol* (TT).

Dung dịch hydrogen peroxyd mẫu 10 phần triệu H₂O₂

Pha loãng 10 ml *dung dịch hydrogen peroxyd loãng* (TT) thành 300 ml với *nước*. Pha loãng 10 ml dung dịch thu được thành 1000 ml với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch iod mẫu 20 phần triệu I

Hòa tan 0,026 g *kali iodid* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 10 ml dung dịch thu được thành 100 ml với *nước*.

Dung dịch iod mẫu 10 phần triệu I

Hòa tan 0,131 g *kali iodid* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 100 ml với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch kali mẫu 2000 phần triệu K

Hòa tan 0,446 g *kali sulfat* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali mẫu 600 phần triệu K

Hòa tan 1,144 g *kali clorid* (TT) đã sấy 3 giờ ở 100 °C đến 105 °C trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali mẫu 100 phần triệu K

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch kali mẫu 2000 phần triệu K* (TT) thành 20 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch kali mẫu 20 phần triệu K

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch kali mẫu 100 phần triệu K* (TT) thành 5 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch kẽm mẫu 5 mg/ml Zn

Hòa tan 3,15 g *kẽm oxyd* (TT) trong 15 ml *acid hydrocloric* (TT) và thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu Zn

Hòa tan 0,440 g *kẽm sulfat* (TT) trong *nước* có chứa 1 ml *dung dịch acid acetic 5 M* (TT) và thêm *nước* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 1 thể tích dung dịch thu được thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch kẽm mẫu 25 phần triệu Zn

Pha loãng 25 ml *dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu Zn* (TT) thành 100 ml với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu Zn

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu Zn* (TT) thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch kẽm mẫu 5 phần triệu Zn

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu Zn* (TT) thành 20 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch lithi mẫu 100 phần triệu Li

Hòa tan 0,6109 g *lithi clorid* (TT) trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch magnesi mẫu 1000 phần triệu Mg

Hòa tan 1,010 g *magnesi sulfat (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch magnesi mẫu 100 phần triệu Mg

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch magnesi mẫu 1000 phần triệu Mg (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch magnesi mẫu 10 phần triệu Mg

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch magnesi mẫu 100 phần triệu Mg (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch mangan mẫu 100 phần triệu Mn

Hòa tan 0,308 g *mangan sulfat (TT)* trong 500 ml *dung dịch acid nitric 1 M (TT)* và pha loãng dung dịch trong thu được thành 1000 ml với nước.

Dung dịch natri mẫu 200 phần triệu Na

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch natri clorid 0,509 % (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch natri mẫu 50 phần triệu Na

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch natri mẫu 200 phần triệu Na (TT)* thành 4 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nhôm mẫu 200 phần triệu Al

Hòa tan 0,352 g *phèn chua (TT)* trong *dung dịch acid sulfuric 0,1 M (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch nhôm mẫu 100 phần triệu Al

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nhôm clorid 0,8947 % (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nhôm mẫu 10 phần triệu Al

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nhôm nitrat 1,39 % (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu Al

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nhôm mẫu 200 phần triệu Al (TT)* thành 100 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nickel mẫu 1000 phần triệu Ni

Hòa tan 0,478 g *nickel (II) sulfat (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch nickel mẫu 10 phần triệu Ni

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nickel mẫu 1000 phần triệu Ni (TT)* thành 100 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nickel mẫu 0,2 phần triệu Ni

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nickel mẫu 10 phần triệu Ni (TT)* thành 50 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nickel mẫu 0,1 phần triệu Ni

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nickel mẫu 10 phần triệu Ni (TT)* thành 100 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nitrat mẫu 1000 phần triệu NO₃

Hòa tan 0,163 g *kali nitrat (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch nitrat mẫu 100 phần triệu NO₃

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nitrat mẫu 1000 phần triệu NO₃ (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nitrat mẫu 10 phần triệu NO₃

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nitrat mẫu 100 phần triệu NO₃ (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nitrat mẫu 2 phần triệu NO₃

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nitrat mẫu 10 phần triệu NO₃ (TT)* thành 5 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nitrit mẫu 20 phần triệu NO₂

Hòa tan 0,6 g *natri nitrit (TT)* trong nước vừa đủ 100 ml và pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 200 ml với nước.

Dung dịch paladi mẫu 500 phần triệu Pd

Hòa tan 50 mg *paladi (TT)* trong 9 ml *acid hydrochloric (TT)* và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch paladi mẫu 20 phần triệu Pd

Hòa tan 0,333 g *paladi clorid (TT)* trong 2 ml *acid hydrochloric (TT)* đã được làm ấm và thêm hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)* và nước vừa đủ 1000 ml. Pha loãng 1 thể tích dung dịch thu được thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch paladi mẫu 0,5 phần triệu Pd

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch paladi mẫu 500 phần triệu Pd (TT)* thành 1000 thể tích với hỗn hợp của 0,3 thể tích *acid nitric (TT)* và 99,7 thể tích nước.

Dung dịch phosphat mẫu 500 phần triệu PO₄

Hòa tan 0,0716 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong nước vừa đủ thành 100 ml.

Dung dịch phosphat mẫu 200 phần triệu PO₄

Pha loãng 10 thể tích *dung dịch phosphat mẫu 500 phần triệu PO₄ (TT)* thành 25 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch phosphat mẫu 100 phần triệu PO₄

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch phosphat mẫu 500 phần triệu PO₄ (TT)* thành 5 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu PO_4

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch phosphat mẫu 500 phần triệu PO_4 (TT)* thành 100 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch sắt mẫu 1000 phần triệu Fe

Hòa tan 0,10 g sắt (TT) trong một lượng tối thiểu *dung dịch đồng thể tích của acid hydrochloric (TT)* với nước và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt mẫu 250 phần triệu Fe

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch sắt (III) clorid hexahydrat 4,84 % (TT)* trong *dung dịch acid hydrochloric 15 % (TT)* thành 40 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch sắt mẫu 200 phần triệu Fe

Hòa tan 0,863 g sắt (III) amoni sulfat (TT) trong nước có chứa 25 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và thêm nước vừa đủ 500 ml.

Dung dịch sắt mẫu 20 phần triệu Fe

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch sắt mẫu 200 phần triệu Fe (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch sắt mẫu 10 phần triệu Fe

Hòa tan 7,022 g sắt (II) amoni sulfat (TT) trong nước có chứa 25 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và thêm nước vừa đủ 1000 ml. Pha loãng 1 thể tích *dung dịch thu được* thành 100 thể tích với nước.

Dung dịch sắt mẫu 8 phần triệu Fe

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chứa 80 mg sắt (TT)* và 50 ml *dung dịch acid hydrochloric 220 g/l (TT)* trong 1000 ml thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch sắt mẫu 2 phần triệu Fe

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch sắt mẫu 20 phần triệu Fe (TT)* thành 10 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch sắt mẫu 1 phần triệu Fe

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch sắt mẫu 20 phần triệu Fe (TT)* thành 20 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch selen mẫu 100 phần triệu Se

Hòa tan 0,100 g selen (TT) trong 2 ml *acid nitric (TT)*, bốc hơi đến khô. Hòa tan cẩn trọng 2 ml nước và bốc hơi đến khô, tiến hành tương tự 3 lần. Hòa tan cẩn trọng *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch selen mẫu 1 phần triệu Se

Pha loãng 25 ml *dung dịch acid selenious 0,00654 % (kl/tt)* thành 1000 ml với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch stronti mẫu 1 phần trăm Sr

Thấm ướt 1,6849 g *stronti carbonat (TT)* với nước, thêm cẩn thận *acid hydrochloric (TT)* cho tới khi chất

rắn tan hoàn toàn và không có bọt khí, thêm nước tới vừa đủ 100 ml.

× Dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4

Hòa tan 0,181 g kali sulfat (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

× Dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4 (TT)* thành 100 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4 trong ethanol

Hòa tan 0,181 g kali sulfat (TT) trong ethanol 30 % (TT) vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4 trong ethanol

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4 trong ethanol (TT)* thành 100 thể tích với ethanol 30 % (TT) ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch sulfit mẫu 80 phần triệu SO_2

Hòa tan 3,150 g natri sulfit khan (TT) trong nước mới cất vừa đủ 100 ml. Pha loãng 0,5 ml thành 100 ml với nước mới cất.

Dung dịch sulfit mẫu 1,5 phần triệu SO_2

Pha loãng 5 ml *dung dịch natri metabisulfid 0,152 % (TT)* thành 100 ml với nước. Thêm 4 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* vào 3 ml *dung dịch thu được* và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch thali mẫu 10 phần triệu Tl

Pha loãng 10 ml *dung dịch natri thali (I) sulfat 0,01235 % (TT)* trong *dung dịch natri clorid 0,9 % (TT)* thành 100 ml với cùng *dung môi*.

Dung dịch thiếc mẫu 5 phần triệu Sn

Hòa tan 0,5 g thiếc (TT) trong hỗn hợp của 5 ml nước với 25 ml *acid hydrochloric (TT)* và thêm nước vừa đủ 1000 ml. Pha loãng 1 thể tích *dung dịch thu được* thành 100 thể tích với *dung dịch acid hydrochloric 2,5 % (TT)* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch thiếc mẫu 0,1 phần triệu Sn

Pha loãng 1 thể tích *dung dịch thiếc mẫu 5 phần triệu Sn (TT)* thành 50 thể tích với nước ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch titan mẫu 100 phần triệu Ti

Hòa tan 0,1 g titan (TT) trong 100 ml *acid hydrochloric (TT)*, thêm nước vừa đủ 150 ml, đun nóng nếu cần. Làm nguội rồi thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch vanadi mẫu 1 g/l V

Hòa tan 0,230 g amoni vanadat (TT) trong nước vừa đủ 100 ml.

Dung dịch zirconi 1 g/l Zr

Hòa tan 0,293 g *zirconyl nitrat (TT)* trong hỗn hợp

của 8 thể tích nước với 2 thể tích *acid hydrochloric* (TT) vừa đủ 100 ml.

2.5 CÁC CHẤT ĐỐI CHIẾU (ĐC)

Chất đối chiếu là chất đồng nhất đã được xác định là đúng để dùng trong các phép thử đã được quy định về hóa học, vật lý và sinh học. Trong các phép thử đó các tính chất của chất đối chiếu được so sánh với các tính chất của chất cần thử. Chất đối chiếu phải có độ tinh khiết phù hợp với mục đích sử dụng. Chất đối chiếu được dùng trong các phép thử sau:

Định tính bằng phương pháp quang phổ hấp thụ hồng ngoại.

Định lượng bằng phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến, quang phổ huỳnh quang.

Các phép thử định tính tạp chất và định lượng bằng phương pháp sắc ký.

Định lượng bằng phương pháp vi sinh vật.

Các phép chuẩn độ đo thể tích, phân tích khối lượng.

Các phép thử sinh học.

Một số phép thử khác có hướng dẫn trong các chuyên luận riêng.

Cách sử dụng chất đối chiếu

Để đáp ứng mục đích sử dụng, chất đối chiếu phải được bảo quản, theo dõi và sử dụng đúng. Theo qui định thông thường, chất đối chiếu phải được đựng trong bao bì gốc, kín, có nhãn rõ ràng, được thường xuyên bảo quản ở nhiệt độ thấp, tránh ánh sáng và ẩm; nếu cần có điều kiện bảo quản đặc biệt khác thì có hướng dẫn trên nhãn.

Trước khi mở bao gói để dùng, chất đối chiếu cần được để một thời gian để đạt tới nhiệt độ phòng thí nghiệm.

Các phép thử được tiến hành đồng thời trên mẫu thử và mẫu đối chiếu đã được chuẩn bị trong cùng điều kiện ghi trong chuyên luận.

Nếu trên nhãn của chất đối chiếu không có chỉ dẫn phải làm khô và nếu trong phép thử riêng của chuyên luận không chỉ định phải làm khô thì có thể sử dụng ngay chất đối chiếu mà không phải làm khô. Trong trường hợp này cần hiệu chỉnh lại lượng cân của chất đối chiếu do khối lượng bị giảm khi làm khô hoặc do hàm lượng nước. Mất khối lượng do làm khô hoặc hàm lượng nước được xác định theo hướng dẫn ở chuyên luận của chất thuốc tương ứng. Khi chất đối chiếu có nước kết tinh, có thể có hướng dẫn đặc biệt trong một phép thử riêng.

Nếu không thể thực hiện được việc xác định hàm lượng nước của chất đối chiếu bằng phương pháp chuẩn độ (phương pháp Karl Fischer) và nếu chuyên luận thuốc tương ứng không có phép thử mất khối lượng do làm khô, thì nên làm khô chất đối chiếu trên một chất hút ẩm thích hợp để chuyển lượng cân của chất đối chiếu thành chất khan, trừ khi có hướng dẫn khác.

X
Khi đọc thấy chữ “chuẩn” xuất hiện sau tên chất được ghi trong các phép thử hay phép định lượng, có nghĩa là phải sử dụng chất đối chiếu.

Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc này cho phép sử dụng các chất đối chiếu quốc gia Việt Nam được thiết lập, bảo quản và phân phối tại Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương (48 Hai Bà Trưng, Quận Hoàn Kiếm, TP. Hà Nội) hoặc Viện Kiểm nghiệm thuốc TP. Hồ Chí Minh (200 Cô Bắc, Quận 1, TP. Hồ Chí Minh) theo sự phân công của Bộ Y tế. Những chất đối chiếu quốc tế, khu vực hay quốc gia khác được sử dụng theo quy định hiện hành.

PHỤ LỤC 3

3.1 CÂN VÀ XÁC ĐỊNH KHỐI LƯỢNG

Xác định khối lượng là bước thường xuyên trong quy trình phân tích. Cân là thiết bị phòng thí nghiệm cần thiết trong hầu hết các phép phân tích. Tuy nhiên, phép cân lại là nguồn phổ biến gây sai số khó phát hiện.

Quy trình mô tả dưới đây áp dụng trực tiếp trên các cân điện tử.

Quy trình xác định khối lượng có thể chia thành ba bước cơ bản: Chuẩn bị cân, kiểm tra cân và cân xác định khối lượng.

3.1.1. Chuẩn bị cân

Bước ban đầu là chọn, trang bị các dụng cụ thí nghiệm thích hợp, như các đồ đựng vật cân (giấy cân, phễu cân...), bình chứa, kẹp gấp, pipet, thìa có kích cỡ phù hợp ...

Sử dụng đồ đựng có kích cỡ không vượt quá tải trọng của cân và phải đảm bảo sạch, khô.

Chuẩn bị các mẫu cân và các hóa chất cần thiết, nếu có yêu cầu, pha các dung dịch, thuốc thử.

Mẫu cân có thể yêu cầu nghiền mịn hoặc sấy khô. Một vài mẫu cân phải được làm nóng hoặc bảo quản trong thiết bị làm lạnh. Trước khi cân, mẫu cân phải đảm bảo được cân bằng nhiệt với nhiệt độ của cân. Để tránh sự ngưng tụ hơi ẩm, các mẫu cân làm lạnh phải được để tới nhiệt độ phòng trước khi mở nắp bình đựng.

3.1.2. Kiểm tra cân

Cân phải được kiểm tra trước khi tiến hành cân để loại các sai số có thể xảy ra. Người sử dụng cân cần kiểm tra môi trường cân, hiệu chuẩn cân và kiểm tra độ không đảm bảo đo của cân.

Môi trường cân

Cân phải được đặt ở vị trí thích hợp có mức rung động đủ thấp, không có luồng khí và có nguồn điện ổn định. Cân và khu vực làm việc chung quanh phải được giữ gọn gàng và sạch sẽ. Nên dùng bàn chải lông mịn làm sạch đĩa cân trước khi cân.

Khi cân được di chuyển đến nơi khác, cân phải để cân ổn định tới nhiệt độ của môi trường mới và phải hiệu chuẩn lại cân.

Hiệu chuẩn cân

Mở nguồn và để cân ổn định trong ít nhất 1 giờ trước khi tiến hành hiệu chuẩn (các cân vi phân tích cần để ổn định 24 giờ để đạt sự cân bằng).

Các cân phân tích điện tử có hệ thống nội chuẩn dựa trên tải trọng xác định.

Sự hiệu chuẩn được tiến hành trong điều kiện nhiệt độ phòng.

Độ không đảm bảo đo của cân

Cách giảm độ trôi

Độ trôi là một trong những sai số thường gặp và cũng là yếu tố có thể làm giảm hoặc loại bỏ dễ dàng nhất.

Kiểm tra mẫu thử, cân phân tích và môi trường phòng thí nghiệm để loại bỏ các nguyên nhân sau đây có thể gây sai số:

Cửa buồng cân mở.

Nhiệt độ của cân và mẫu cân không đồng nhất.

Mẫu cân tăng hoặc giảm khối lượng.

Cân mới được di chuyển nhưng chưa được để cân bằng với môi trường hoặc chưa được hiệu chuẩn lại.

Có các luồng gió trong phòng thí nghiệm.

Nhiệt độ trong phòng thí nghiệm thay đổi.

Cân không đặt thật thẳng bằng.

Các hoạt động trong phòng thí nghiệm gây rung động.

Ảnh hưởng của các bộ phận cơ học xảy ra trong suốt quá trình cân.

Hiện tượng trễ cơ học

Hiện tượng trễ của cân là do sự căng quá mức các lò xo, chủ yếu gây bởi việc cân quá tải hoặc bởi đánh rơi vật nào đó lên đĩa cân.

Quy trình đảm bảo chất lượng cho sự đo độ trôi của cân

Sau một khoảng thời gian vận hành cân, độ trôi của cân được kiểm tra bằng việc cân khối lượng quả cân chuẩn đã được nối chuẩn. Việc kiểm tra này nên thực hiện sau khi cân đã được hiệu chuẩn ở nhiệt độ phòng thí nghiệm, trước khi cân mẫu đầu tiên trong ngày hoặc sau một sự cố có thể làm sai lệch cân (mất nguồn điện, di chuyển cân đến vị trí khác...).

Quả cân chuẩn phải có khối lượng hằng định và không vượt quá mức trọng tải của cân. Mỗi cân nên được cung cấp một quả cân chuẩn, đựng trong hộp bảo vệ và đặt cạnh cân.

Cần thực hiện những quy trình sau đây để làm giảm các sai số cân và khả năng sai số do độ trôi:

Đảm bảo nối nguồn điện cho cân, kiểm tra bọt nước thẳng bằng của cân.

Hiệu chuẩn cân phân tích hoặc cân vi phân tích.

Hàng ngày, người đầu tiên sử dụng cân phải kiểm tra cân bằng cách cân khối lượng quả cân chuẩn, ghi chép khối lượng này vào sổ theo dõi để so sánh với các lần cân trước. Nếu sự chênh lệch lớn hơn giới hạn cho phép của cân phân tích và cân vi phân tích, phải báo cáo để sửa chữa.

(Quả cân chuẩn phải được bảo quản, tránh sự tiếp xúc với những chất gây ô nhiễm trong không khí, có thể làm sạch bằng một miếng vải gạc được làm ẩm bằng một lượng nhỏ dung môi thích hợp như ether ethylic).

Cân phân tích

Chọn một quả cân chuẩn có khối lượng phù hợp để kiểm tra cân phân tích. Nếu có thể, cài đặt cân để đọc tới số thập phân thứ 5. Vận hành cân theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Dùng kẹp gấp quả cân chuẩn đặt cân thận lên đĩa cân, tránh để rơi xuống đĩa cân. Đặt quả cân vào chính giữa đĩa cân để loại trừ độ lệch góc. Nếu không có sự trôi, khối lượng của quả cân chuẩn sẽ hằng định.

Định kỳ sử dụng quả cân chuẩn cố định sẽ phát hiện được độ trôi của cân (nếu có). Việc kiểm tra độ trôi được thực hiện bằng cách cân ở những vị trí nhạy nhất. Mức dao động khối lượng thu được không được vượt quá $\pm 0,2$ mg. Ví dụ: Với quả cân 20 g, nếu giá trị trung bình đọc được là 19,9984 g, khối lượng dao động từ 19,9982 đến 19,9986 g là chấp nhận được. Vì vậy phải đọc kết quả nhiều lần trước khi thiết lập dung sai.

Cân vi phân tích

Tiến trình như hướng dẫn cho cân phân tích nhưng dùng một quả cân chuẩn thích hợp cho loại cân này.

Ví dụ: Có thể dùng quả cân chuẩn 100 mg cho cân có mức trọng tải là 150 mg hoặc có thể dùng quả cân chuẩn 10 mg cho một cân siêu vi phân tích có mức trọng tải là 15 mg.

(Người sử dụng cân phải biết trọng tải tối đa của cân để chọn quả cân chuẩn thích hợp).

Cân biểu thị khối lượng bằng miligam. Ghi chép khối lượng ngay sau khi kết quả đọc ổn định một vài giây. Sự biến thiên khối lượng phải trong giới hạn phù hợp với tiêu chuẩn kỹ thuật của nhà sản xuất nhưng không được lớn hơn 0,1% lượng mẫu cân.

Ví dụ: Nếu cân các mẫu 10 mg, sự biến thiên khối lượng của quả cân chuẩn phải không vượt quá 0,01 mg.

3.1.3. Cân xác định khối lượng mẫu

Trong bước cuối này, chọn phần thập phân của kết quả cân theo yêu cầu của quy trình phân tích. Phần lớn các phép phân tích trong dược phẩm sử dụng một lượng nhỏ mẫu thử, nên yêu cầu giá trị đọc trên cân cài đặt tới số thập phân thứ năm để đạt độ đúng cần thiết.

Số thập phân thứ tư thích hợp hơn với các khối lượng mẫu cân gần bằng gam.

Không cân mẫu quá lâu để tránh những thay đổi gây ra bởi sự tương tác với nước trong không khí và khí carbonic.

Giới hạn trọng tải

Chọn cân phù hợp với khối lượng phải cân và độ đúng cần thiết. Mỗi cân có một giới hạn trọng tải, không nên vượt quá. Mỗi nhà sản xuất cân đã xác định trọng tải tối đa của cân và giới hạn này thay đổi với từng loại cân. Người sử dụng nên biết giới hạn trọng tải để tránh làm hỏng cân.

Dụng cụ chứa mẫu

Những dụng cụ chứa mẫu cân thông thường là lọ cân, thuyền cân (phễu cân), giấy cân, bình nón... Dụng cụ chứa mẫu thích hợp phụ thuộc vào khối lượng và trạng thái mẫu cân (lỏng, rắn, bột...). Phải chọn dụng cụ chứa mẫu thích hợp cho từng mẫu cân. Khối lượng

dụng cụ chứa cộng khối lượng mẫu cân cân phải không vượt quá trọng tải tối đa của cân. Kích cỡ, hình dáng của dụng cụ chứa phải phù hợp với đĩa cân và không gian buồng cân để không ảnh hưởng đến các thao tác cân. Quan trọng là dụng cụ chứa mẫu phải sạch và khô.

Cần sử dụng găng tay, kẹp gấp và các dụng cụ để lấy các dụng cụ chứa vì mồ hôi từ tay có thể ảnh hưởng tới khối lượng cân.

Thuyền cân thường được sử dụng nhiều nhất vì nó vừa là dụng cụ chứa vừa là phễu giúp chuyển dễ dàng mẫu cân vào bình. Thuyền cân có nhiều cỡ khác nhau, nên chọn cỡ phù hợp cho từng trường hợp.

Giấy cân thường sử dụng để cân chất rắn. Giấy cân được cầm bằng tay, phải cân thận để tránh làm rơi, đổ mẫu cân.

Các phương pháp cân

Những phương pháp sau đây thường được sử dụng và cho kết quả phân tích tốt.

Phương pháp 1

Cân trừ bì: Đặt dụng cụ chứa rỗng lên chính giữa đĩa cân và nhấn phím cân trừ bì để khối lượng của dụng cụ chứa không hiển thị nữa (giá trị 0). Cho mẫu cân vào dụng cụ chứa và ghi nhận khối lượng mẫu cân. Chuyển lượng mẫu cân vào bình định mức rồi cân lại dụng cụ chứa ban đầu. (Chú ý không thay đổi sự cài đặt cân trừ bì của cân giữa 2 lần cân này). Khối lượng đọc được ở lần cân thứ 2 chính là lượng mẫu thử không chuyển hết vào bình định mức (còn dính lại trên dụng cụ chứa mẫu cân) và được trừ vào khối lượng mẫu cân đọc được ở lần cân thứ nhất để xác định khối lượng mẫu thử đã được chuyển vào bình.

Phương pháp 2

Cân không trừ bì: Cho mẫu thử vào dụng cụ chứa và đặt lên chính giữa đĩa cân. Ghi nhận khối lượng cân và chuyển mẫu thử vào bình định mức, cân lại dụng cụ chứa ban đầu. Khối lượng đọc được ở lần cân thứ 2 là tổng khối lượng của dụng cụ chứa mẫu và lượng mẫu cân không được chuyển hết vào bình (còn dính lại trên dụng cụ chứa mẫu cân). Hiệu của khối lượng cân ban đầu và khối lượng cân lần 2 là khối lượng mẫu thử đã chuyển vào bình định mức.

Phương pháp 3

Phương pháp này được xem như là phương pháp chuyển toàn lượng. Mẫu cân được cho vào dụng cụ chứa đã cân bì, xác định khối lượng mẫu cân bởi sự chênh lệch giữa khối lượng cân đọc được và khối lượng cân bì. Toàn bộ lượng mẫu thử được chuyển hết vào bình bằng cách dùng một dụng cụ để hoà tan mẫu và tráng dụng cụ chứa mẫu.

Quy trình xử lý mẫu cân an toàn

Các thao tác an toàn khi cân: Người tiến hành cân cần đọc kỹ các thông báo về mẫu thử, các tài liệu an toàn về hóa chất, nguyên vật liệu... trước khi cân.

Những nguyên liệu, hóa chất nguy hiểm (chất độc, chất ăn mòn, chất dễ cháy, chất nổ, chất gây dị ứng, chất phóng xạ...) phải đặt ở nơi riêng biệt, kín, có hệ thống lọc khí thích hợp.

Sử dụng khẩu trang che mũi và miệng để ngăn ngừa việc hít các bụi hóa chất. Cần dùng găng tay để tránh sự tiếp xúc với da và cũng để ngăn ngừa hơi ẩm, mồ hôi bám trên dụng cụ chứa khi cân mẫu. Trong suốt quá trình cân, người tiến hành cân phải tiếp xúc với các chất liệu nguyên chất ở nồng độ cao, do đó phải luôn luôn quan tâm đến biện pháp bảo đảm an toàn.

Quy trình cân được thực hiện với nhiều loại mẫu thử khác nhau như chất rắn, bột mịn, chất lỏng (nhớt hoặc không nhớt, bay hơi hoặc không bay hơi)... nên mỗi loại mẫu thử yêu cầu những thao tác riêng biệt.

Cân chất rắn

Chất rắn có 2 dạng: Dạng khối lượng lớn có bột hay không có bột trên bề mặt và dạng bột mịn hay những tinh thể nhỏ.

Khi cân chất rắn có khối lượng lớn và có bột trên bề mặt, dùng giấy cân để bảo vệ cân, còn không có bột trên bề mặt, trơ, có thể đặt trực tiếp lên đĩa cân (ví dụ: viên bao).

Mẫu chất rắn phải lấy bằng kẹp gấp, không lấy bằng tay.

Hiện tượng tích điện:

Dạng bột mịn có xu hướng tích điện, làm các tiểu phân bay xung quanh. Hiện tượng này phải được loại bỏ trước khi cân. Có thể dùng thiết bị chống tích điện để làm giảm đến mức tối thiểu vấn đề này.

Hiện tượng tích điện phụ thuộc vào độ ẩm tương đối của phòng thí nghiệm. Trong điều kiện nào đó, có thể sự tích điện được tạo ra bởi loại quần áo mà người thao tác cân đang mặc. Điện tích này khi phóng điện gây những sai số lớn về khối lượng.

Quy trình cân:

Đặt dụng cụ chứa mẫu lên đĩa cân, đóng cửa buồng cân và cân theo chỉ dẫn "Các phương pháp cân". Cần thận thêm mẫu cân dạng bột bằng một thìa xúc vào dụng cụ chứa cho tới khi đạt lượng mong muốn. Thao tác cân thận để tránh rơi vãi ra ngoài. Đóng cửa buồng cân và ghi khối lượng mẫu cân ngay khi cân ổn định.

Sự rơi vãi:

Nếu chất rắn bị rơi vãi ra ngoài, lấy dụng cụ chứa ra, loại bỏ hoàn toàn các chất liệu rơi đổ trên cân, làm sạch bên trong, bên ngoài buồng cân, bàn cân, tránh để người sau tiếp xúc với các chất liệu rơi vãi.

(Chú ý: Không cho trở lại lọ chứa mẫu các mẫu cân dư).

Cân chất lỏng

Chất lỏng có thể bay hơi hoặc không bay hơi và nhớt hoặc không nhớt. Mỗi loại có những chú ý riêng biệt.

Cân theo hướng dẫn "Các phương pháp cân", chú ý thêm các phần sau:

Chất lỏng luôn luôn được cân vào đồ đựng (chứa) có nắp để tránh sự bay hơi. Tốt nhất chất lỏng nên được cho vào bình cân ở bên ngoài cân để tránh đổ tràn trên cân.

(Chú ý: chất lỏng đổ tràn trong buồng cân có thể gây những hư hỏng nghiêm trọng cho cân và khó lau chùi sạch).

Chất lỏng không nhớt có thể được lấy bằng một pipet Pasteur có gắn một quả bóp cao su nhỏ như ống nhỏ giọt. Chất lỏng được rót vào bình, đặt nắp và đặt lên cân.

Một lượng nhỏ chất lỏng nhớt có thể được lấy bằng cách chạm một đũa thủy tinh tới bề mặt chất lỏng rồi cẩn thận chạm que này tới thành bình cân mẫu để một ít chất lỏng được chuyển qua.

Cân các chất liệu ăn mòn

Nhiều hóa chất có tính ăn mòn, như các muối. Các chất liệu có tính ăn mòn không nên để rơi đổ trên đĩa cân hoặc bên trong buồng cân. Cần thận khi cân các chất liệu này.

3.1.4. Kết luận

Thực hiện chặt chẽ theo các quy trình chỉ dẫn trên, nhân viên phòng thí nghiệm có thể loại bỏ nhiều sai số trong quá trình tiến hành cân. Tuy nhiên, phải có cán bộ kỹ thuật có chuyên môn bảo trì và hiệu chuẩn cân định kỳ. Phải dùng các quả cân chuẩn đã được liên kết với chuẩn quốc gia. Điều này là rất quan trọng.

3.2 NHIỆT KẾ

Các thiết bị đo nhiệt độ thích hợp cho các thử nghiệm trong Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc phải đạt các yêu cầu kỹ thuật trong hệ thống nhiệt kế chuẩn quốc gia.

Các thiết bị đo nhiệt độ có thể là nhiệt kế thủy tinh - chất lỏng, nhiệt kế hiển số hoặc nhiệt kế đồng hồ.

Nhiệt kế hiển số hoặc nhiệt kế đồng hồ gồm một đầu dò nhiệt độ. Đầu dò được gắn với một đồng hồ đo có khả năng chuyển tín hiệu ôm hoặc milivôn sang đại lượng nhiệt độ. Phần đầu dò nhiệt độ được nhúng ngập trong môi trường cần đo được làm bằng chất liệu trơ.

Việc chuẩn hóa nhiệt kế được thực hiện định kỳ theo tần suất xác định nối với thang nhiệt độ chuẩn quốc gia. Cần chú ý điều kiện, thiết bị cụ thể được sử dụng để chọn thiết bị đo nhiệt độ phù hợp.

Các nhiệt kế thủy tinh - chất lỏng được chuẩn hóa theo 3 cách: Nhúng sâu toàn phần, nhúng từng phần hoặc nhúng sâu hoàn toàn. Vì vậy khi sử dụng các nhiệt kế này cần tuân thủ theo điều kiện đã được chuẩn hóa. Việc chuẩn hóa các nhiệt kế được thực hiện định kỳ theo tần suất xác định nối với thang nhiệt độ chuẩn quốc gia.

Việc chuẩn hóa nhiệt kế thủy tinh - chất lỏng loại nhúng sâu toàn phần được thực hiện bằng cách nhúng sâu nhiệt kế vào môi trường đo tới phần trên của cột chất lỏng, phần còn lại của thân nhiệt kế ở nhiệt độ phòng.

Việc chuẩn hóa nhiệt kế thủy tinh - chất lỏng loại nhúng từng phần được thực hiện bằng cách nhúng nhiệt kế ở một độ sâu cố định, phần thân nhiệt kế còn lại ở nhiệt độ phòng. Loại nhiệt kế này được khắc vạch quy định độ sâu được nhúng trong môi trường đo nhiệt độ.

Việc chuẩn hóa nhiệt kế thủy tinh - chất lỏng loại nhúng sâu hoàn toàn được thực hiện bằng cách cho toàn bộ nhiệt kế vào môi trường cần đo nhiệt độ.

Nếu cần sử dụng trong những điều kiện khác với điều kiện chuẩn hóa thì cần phải hiệu chỉnh để có giá trị đo đúng.

3.3 DỤNG CỤ ĐO THỂ TÍCH

Hầu hết các dụng cụ đo thể tích dùng trong phân tích được xác định dung tích ở 20 °C, mặc dù nhiệt độ quy định cho các phép thử và định lượng trong Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc thường là 25 °C. Sự khác nhau này không quan trọng, miễn là nhiệt độ phòng thí nghiệm tương đối hằng định. Khi cần tiến hành thử nghiệm đúng ở 20 °C thì yêu cầu này được ghi trong chuyên luận riêng.

Để giảm thiểu sai số phép đo thể tích, các dụng cụ đo thể tích, các chất liệu và các dung môi dùng pha chế dung dịch, môi trường thử nghiệm và việc điều chỉnh thể tích cuối cùng phải được duy trì ở cùng một nhiệt độ.

Để đạt được độ chính xác yêu cầu trong nhiều phương pháp định lượng của Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc có các phép đo thể tích chính xác, cần lựa chọn và dùng các dụng cụ đo thể tích thích hợp. Chọn kích cỡ của buret phù hợp sao cho thể tích dung dịch chuẩn độ không ít hơn 30 % thể tích danh định của buret. Muốn đo thể tích một dung dịch chuẩn độ dưới 10 ml thì phải dùng buret 10 ml hoặc vi buret.

Thiết kế dụng cụ đo thể tích là một yếu tố quan trọng trong việc đảm bảo độ đúng. Ví dụ: Chiều dài phần chia độ của ống trụ buret không được nhỏ hơn 5 lần đường kính trong của ống; các đầu pipet và buret phải cấu tạo sao cho hạn chế được dòng chảy chất lỏng không quá 500 µl mỗi giây.

Dung sai thể tích đối với các loại bình định mức, các pipet chính xác có bầu, pipet chia độ và các buret là dung sai đã được Tổ chức Tiêu chuẩn hóa quốc tế (ISO) thừa nhận và được ghi trong các bảng kèm theo dưới đây.

Khi sử dụng các pipet chính xác có bầu và pipet chia độ được định cỡ theo kiểu đổ ra "TD" (to deliver) phải giữ pipet thẳng đứng và đầu pipet phải chạm vào thành bình hứng rồi cho chất lỏng chảy ra.

Các số đọc thể tích trên buret phải được lượng giá tới 0,1 ml đối với buret 25 ml và 50 ml, và tới 0,05 ml đối với buret 5 ml và 10 ml.

Trong các trường hợp đặc biệt như đo thể tích chất lỏng nhớt như sirô, dùng pipet được định cỡ theo kiểu đổ vào "TC" (to contain) hoặc bình định mức. Sau khi đã đổ chất lỏng ra, phải rửa sạch thành trong của dụng cụ và gộp nước rửa vào phần chất lỏng đã lấy.

Bình định mức

Dung tích (ml)	Sai số cho phép (ml)
5	± 0,025
10	± 0,025
25	± 0,04
50	± 0,06
100	± 0,10
200	± 0,15
250	± 0,15
500	± 0,25
1000	± 0,40
2000	± 0,60

Pipet chính xác có bầu (kiểu đổ ra)

Dung tích (ml)	Sai số cho phép (ml)
0,5	± 0,005
1	± 0,007
2	± 0,01
5	± 0,015
10	± 0,02
20	± 0,03
25	± 0,03
50	± 0,05
100	± 0,08
200	± 0,10

Pipet chia độ

Dung tích (ml)	Sai số cho phép (ml)
1	± 0,006
2	± 0,01
5	± 0,03
10	± 0,05
25	± 0,1

Buret

Thể tích xác định (ml)	Phân độ (ml)	Sai số cho phép (ml)
10 (vi buret)	0,02	± 0,02
25	0,10	± 0,03
50	0,10	± 0,05

3.4 PHỄU LỌC THỦY TINH XỐP

Bảng 3.4.1. Đường kính lỗ xốp của phễu lọc thủy tinh xốp

Đường kính lỗ xốp (μm)	Cách dùng chính
Nhỏ hơn 2,5	Lọc vi khuẩn
4 đến 10	Lọc cực mịn, phân tách các vi sinh vật có đường kính lớn.
10 đến 40	Lọc dùng trong phân tích, lọc thủy ngân rất mịn, phân tán rất nhỏ các khí.
40 đến 100	Lọc mịn, lọc thủy ngân, phân tán nhỏ các khí.
100 đến 160	Lọc các chất thô, phân tán và rửa khí, làm giá lọc cho các vật liệu lọc khác.
160 đến 500	Lọc các chất rất thô, phân tán và rửa khí.

Bảng 3.4.2. Bảng so sánh độ xốp của các phễu lọc xốp

Số độ xốp	Đường kính tối đa của các lỗ xốp (μm)	Đức	Pháp	Anh
1,6	dưới 1,6	5f	-	-
-	1 đến 2,5	5	-	5
4	1,6 đến 4	-	-	-
-	4 đến 6	-	5	-
10	4 đến 10	4f	-	4
16	10 đến 16	4	4	-
40	16 đến 40	3	3	3
-	40 đến 50	-	-	2
100	40 đến 100	2	2	-
-	100 đến 120	-	-	1
160	100 đến 160	1	1	-
-	150 đến 200	0	0	-
250	160 đến 250	-	-	-
-	200 đến 500	-	00	-

(Những giới hạn chỉ dẫn là gần đúng)

3.5 CỖ BỘT VÀ RÂY

Bột

Các cỡ bột được quy định dựa vào các số của rây. Trừ khi có chỉ dẫn khác, khi quy định dùng một rây để xác định cỡ bột thì không được có dưới 97 % khối lượng thuốc bột qua được cỡ rây đó. Khi quy định dùng hai rây để xác định cỡ bột thì để một rây lên trên rây kia và tiến hành rây; không được có dưới 95 % khối lượng thuốc bột qua rây có số rây cao hơn và không

được quá 40% khối lượng thuốc bột qua rây có số rây thấp hơn.

Người ta dùng những ký hiệu sau đây để quy định các cỡ bột:

Bột thô (1400/ 355) là bột mà không ít hơn 95 % phần tử qua được rây số 1400 và không quá 40 % qua được rây số 355.

Bột nửa thô (710/ 250) là bột mà không ít hơn 95 % phần tử qua được rây số 710 và không quá 40 % qua được rây số 250.

Bột nửa mịn (355/ 180) là bột mà không ít hơn 95 % phần tử qua được rây số 355 và không quá 40 % qua được rây số 180.

Bột mịn (180/ 125) là bột mà không ít hơn 95 % phần tử qua được rây số 180 và không quá 40 % qua được rây số 125.

Bột rất mịn (125/ 90) là bột mà không ít hơn 95 % phần tử qua được rây số 125 và không quá 40 % qua được rây số 90.

Rây

Lưới rây có thể dệt bằng sợi kim loại hoặc sợi các vật liệu khác thích hợp và dệt thành những mắt vuông. Lưới của rây dùng để rây bột thuốc được phân loại bằng những con số, chúng biểu thị kích thước lỗ rây quy định tính bằng μm . Vật liệu để làm lưới rây không được tạo ra một phản ứng nào với những bột đem rây. Khi rây, tránh kéo dài thời gian vì sẽ làm tăng độ mịn của bột. Khi không dùng vào mục đích phân tích, có thể dùng rây có mắt tròn, có đường kính trong bằng 1,25 lần chiều rộng mắt vuông của rây có cỡ tương ứng.

Đối với bột thô hoặc nửa thô thì lấy 25 g tới 100 g bột để thử. Cho vào rây thích hợp, lắc rây theo chiều ngang quay tròn ít nhất 20 phút và rây tới khi xong. Cân đúng số lượng còn lại ở trên rây và số thu được trong hộp hứng.

Đối với bột nửa mịn, mịn hay rất mịn thì tiến hành như bột thô, nhưng mẫu bột lấy để thử không quá 25 g và lắc rây ít nhất 30 phút rồi rây tới khi xong.

Trường hợp phải rây những chất có dầu hay những bột khác có xu hướng bít mắt rây thì trong quá trình rây thỉnh thoảng chải cẩn thận mắt rây, tách rời những đồng tụ lại khi rây.

Bảng 3.5. Cỡ rây (kim loại)

Số rây*	Cỡ mắt rây (mm)	Đường kính sợi dây (mm)
2000	2,000	0,900
1400	1,400	0,710
710	0,710	0,450
500	0,500	0,315
355	0,355	0,224
250	0,250	0,160
180	0,180	0,125
150	0,150	0,100
125	0,125	0,090
90	0,090	0,063
75	0,075	0,050
45	0,045	0,032

* Số rây biểu thị kích thước đo bằng μm của mắt rây.

Những quy định mắt rây bằng sợi kim loại chủ yếu được lựa chọn trong tiêu chuẩn ISO 565 - 1975.

Ghi chú: Đối với dược liệu có khi cần dùng các cỡ rây to hơn so với bảng cỡ rây trên, trong trường hợp này chỉ cần nêu rõ kích thước của cỡ mắt rây.

3.6 RỬA DỤNG CỤ THỦY TINH

Độ sạch của dụng cụ thủy tinh đem dùng có ảnh hưởng rất lớn đến kết quả của một phép thử hoặc một phép định lượng. Các dụng cụ thủy tinh như cốc vại có mỏ, buret, pipet, bình nón, bình cầu v.v... đều phải thật sạch, đặc biệt là khi được dùng để định lượng bằng phương pháp vi sinh vật, thử chí nhiệt tố, hoặc khi dùng để lấy một thể tích nhỏ chất lỏng hay dung dịch.

Một trong những chất làm sạch dụng cụ thủy tinh tốt nhất là acid nitric đun nóng. Hỗn hợp acid cromic cũng là tác nhân làm sạch rất tốt dùng để loại sạch chất hữu cơ khỏi bề mặt thủy tinh mà không phải đun nóng. Hỗn hợp này được pha chế bằng cách hòa tan 200 g *natri dicromat (TT)* hoặc *kali dicromat (TT)* vào khoảng 100 ml *nước*, làm lạnh trong nước đá rồi thêm từ từ 1500 ml *acid sulfuric (TT)*, vừa thêm vừa khuấy. Việc pha chế phải được thực hiện trong cốc vại bằng thủy tinh boro-silicat và cần đeo kính bảo hộ khi thêm acid. Hỗn hợp acid cromic là chất rất ăn mòn và hút nước, vì thế, phải được bảo quản trong những bình thủy tinh có nút mài và để ở nơi an toàn. Khi để yên, tinh thể acid cromic có thể được tạo thành, tách ra khỏi hỗn hợp, khi đó cần gạn để loại đi. Nếu hỗn hợp acid cromic có màu xanh thì không dùng nữa.

Dụng cụ thủy tinh được xử lý bằng hỗn hợp acid cromic cần phải rửa bằng nước rất nhiều lần để tránh

acid cromic bị hút bám lên bề mặt. Không dùng hỗn hợp này để làm sạch những bình đựng dùng cho các phép đo quang học.

Mặc dù hỗn hợp acid cromic là chất làm sạch rất tốt, nhưng nó cũng được khuyến cáo không sử dụng ở nhiều phòng thí nghiệm vì acid cromic có trong danh sách chất thải độc hại nguy hiểm của cơ quan bảo vệ môi trường Mỹ (EPA).

Để rửa sạch dụng cụ thủy tinh, người ta còn có thể dùng những dung dịch tẩy rửa tổng hợp hoặc những hóa chất tẩy có tính kiềm như *trinitrat phosphat*; dùng những chất này cũng có yêu cầu phải rửa nhiều lần bằng nước.

Tất cả dụng cụ thủy tinh cuối cùng đều được tráng bằng *nước cất* và làm khô trước khi dùng.

PHỤ LỤC 4

4.1 PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ TỬ NGOẠI VÀ KHẢ KIẾN

Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến còn được gọi là phương pháp quang phổ hấp thụ điện tử, là một trong các phương pháp phân tích dựa trên sự hấp thụ bức xạ điện từ.

Xác định độ hấp thụ

Độ hấp thụ A của một dung dịch là logarit thập phân của nghịch đảo độ truyền quang T khi cho ánh sáng đơn sắc đi qua. Nó được biểu thị bằng phương trình:

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{T} = \log_{10} \frac{I_0}{I}$$

Trong đó:

I là cường độ ánh sáng đơn sắc sau khi đã truyền qua dung dịch;

I_0 là cường độ ánh sáng đơn sắc tới;

T là độ truyền quang.

Ngoại trừ sự có mặt của các yếu tố lý - hóa học khác, độ hấp thụ A tỷ lệ với độ dài quang trình d của ánh sáng truyền qua dung dịch (bề dày lớp dung dịch) và nồng độ c của dung dịch chất khảo sát. Sự phụ thuộc này được biểu thị bằng phương trình:

$$A = \varepsilon \times c \times d$$

Trong đó ε là độ hấp thụ mol, d được biểu thị bằng cm và c biểu thị bằng mol/lít.

Độ hấp thụ của dung dịch chất tan ở nồng độ 1% (kl/tt) hay 10 g/l trong một cốc đo có chiều dày 1 cm và đo ở một bước sóng xác định là độ hấp thụ riêng của chất tan và được ký hiệu là A (1 %, 1 cm). Độ hấp thụ riêng của chất tan được tính bằng công thức:

$$A (1\%, 1 \text{ cm}) = \frac{10 \times \varepsilon}{M}$$

M là khối lượng phân tử của chất thử.

Độ hấp thụ riêng của một chất trong một dung môi xác định và đo ở một bước sóng xác định là một đặc tính của chất đó. Trừ những chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, người ta đo độ hấp thụ ở độ dài sóng quy định và sử dụng quang trình dài 1 cm ở 19 °C đến 21 °C.

Ngoại trừ các chỉ dẫn trong chuyên luận riêng, các phép đo được tiến hành so sánh với dung môi hoặc với hỗn hợp dung môi đã dùng để chuẩn bị mẫu thử. Độ hấp thụ của dung môi hoặc hỗn hợp dung môi đo đối chiếu với không khí không được vượt quá 0,4 và

tốt nhất là dưới 0,2. Khi vẽ phổ hấp thụ, đặt độ hấp thụ hoặc hàm số của độ hấp thụ trên trục tung và đặt độ dài sóng hoặc hàm số của độ dài sóng trên trục hoành.

Khi một chuyên luận riêng đưa ra một trị số riêng lẻ cho vị trí của một cực đại, điều này được hiểu là trị số khảo sát được có thể lệch không quá ± 2 nm.

Thiết bị

Máy quang phổ thích hợp dùng cho việc đo phổ vùng tử ngoại và khả kiến bao gồm một hệ thống quang học có khả năng cung cấp ánh sáng đơn sắc trong dải từ 200 nm đến 800 nm và một thiết bị phù hợp để đo độ hấp thụ. Hai cốc đo dùng cho dung dịch thử và dung dịch đối chiếu cần phải có đặc tính quang học như nhau. Khi đo trên máy tự ghi hai chùm tia, cốc đựng dung dịch đối chiếu được đặt ở bên có chùm tia đối chiếu đi qua.

Kiểm tra độ dài sóng

Kiểm tra thang độ dài sóng bằng cách sử dụng cực đại hấp thụ của dung dịch holmi perchlorat. Vạch phổ của đèn nguồn hydro hoặc đèn deuterium và các vạch phổ của đèn hơi thủy ngân được chỉ ra ở dưới đây:

Giới hạn sai lệch cho phép là ± 1 nm ở vùng tử ngoại và ± 3 nm ở vùng khả kiến.

241,15 nm (Ho)	404,66 nm (Hg)
253,70 nm (Hg)	435,83 nm (Hg)
287,15 nm (Ho)	486,00 nm (D β)
302,25 nm (Hg)	486,10 nm (H β)
313,16 nm (Hg)	536,30 nm (Ho)
334,15 nm (Hg)	546,07 nm (Hg)
361,50 nm (Ho)	576,96 nm (Hg)
365,48 nm (Hg)	579,07 nm (Hg)

Kiểm tra độ hấp thụ

Kiểm tra độ hấp thụ của dung dịch kali dicromat ở các độ dài sóng chỉ ra ở Bảng 4.1.1. Trong bảng mỗi độ dài sóng có một giá trị chính xác của độ hấp thụ riêng A (1%, 1 cm) và các giới hạn cho phép.

Để kiểm tra độ hấp thụ, dùng một dung dịch kali dicromat được chuẩn bị theo cách sau: Hòa tan 57,0 mg đến 63,0 mg kali dicromat đã được sấy ở 130 °C đến khối lượng không đổi trong một lượng vừa đủ dung dịch acid sulfuric 0,005 M để tạo thành 1000 ml dung dịch.

Bảng 4.1.1

Độ dài sóng (nm)	A (1%, 1 cm)	Giới hạn cho phép
235	124,5	122,9 - 126,2
257	144,0	142,4 - 145,7
313	48,6	47,0 - 50,3
350	106,6	104,9 - 109,2

Độ hấp thụ của dung dịch kali dicromat chuẩn chứa đúng 60,06 mg $K_2Cr_2O_7$ trong 1000 ml acid sulfuric 0,005 M, đo trên máy với cốc đo có quang trình dài 1 cm, được chỉ ra ở Bảng 4.1.2.

Bảng 4.1.2

Độ dài sóng (nm)	Độ hấp thụ
235	0,748
257	0,865
313	0,292
350	0,640

Dung sai độ hấp thụ là $\pm 0,01$

Giới hạn ánh sáng lạc

Ánh sáng lạc có thể được phát hiện ở độ dài sóng đã cho bằng kính lọc thích hợp, hoặc dung dịch hóa chất thích hợp, thí dụ độ hấp thụ của *dung dịch kali clorid 1,2 % (TT)* trong một cốc đo có quang trình dài 1 cm phải lớn hơn 2,0 ở độ dài sóng 200 nm khi so sánh với *nước cất*.

Độ phân giải (cho phân tích định tính)

Khi có quy định trong chuyên luận, tiến hành kiểm tra độ phân giải của máy như sau: Ghi phổ của *dung dịch toluen 0,02 % (tt/tt)* trong *hexan (TT)*. Giá trị tối thiểu của tỷ số giữa độ hấp thụ ở cực đại 269 nm và độ hấp thụ ở cực tiểu 266 nm được quy định trong chuyên luận riêng.

Độ rộng khe phổ (cho phân tích định lượng)

Để tránh sai số gây ra bởi độ rộng khe phổ, khi sử dụng một máy có độ rộng khe phổ thay đổi ở độ dài sóng đã chọn thì độ rộng khe phổ phải nhỏ so với nửa độ rộng của băng hấp thụ. Nhưng độ rộng này phải đủ lớn để thu được giá trị cao của cường độ ánh sáng tới I_0 và việc thu hẹp độ rộng khe phổ sau đó phải không làm cho độ hấp thụ đọc được tăng lên.

Cốc đo (cốc đo)

Dung sai về độ dài quang trình của cốc đo là $\pm 0,005$ cm. Khi đã được nạp đầy cùng một dung môi, các cốc đo có ý định sử dụng để chứa dung dịch mẫu thử và để chứa dung dịch mẫu trắng phải có độ truyền quang như nhau. Nếu tiêu chuẩn này không được đáp ứng thì cần có sự hiệu chỉnh thích hợp.

Các cốc đo cần được làm sạch và thao tác thận trọng.

Phương pháp phổ đạo hàm

Phương pháp phổ đạo hàm là sự chuyển dạng của phổ hấp thụ sang phổ đạo hàm bậc một, bậc hai hoặc bậc cao hơn. Phổ đạo hàm bậc một là đồ thị của gradient đường cong hấp thụ (tốc độ của sự thay đổi độ hấp thụ theo độ dài sóng, $dA/d\lambda$) theo độ dài sóng. Phổ đạo hàm bậc hai là đồ thị của độ cong của phổ hấp thụ ($d^2A/d\lambda^2$) theo độ dài sóng. Nếu độ hấp thụ tuân theo định luật Lambert Beer, đạo hàm bậc hai tại bất kỳ độ

dài sóng λ nào cũng liên quan tới nồng độ bởi phương trình sau:

$$\frac{d^2A}{d\lambda^2} = \frac{d^2A(1\%, 1\text{cm})}{d\lambda^2} \times c \times d$$

Trong đó:

A là độ hấp thụ ở bước sóng λ ;

A (1 %, 1cm) là độ hấp thụ riêng ở bước sóng λ ;

c là nồng độ của chất hấp thụ biểu thị dưới dạng % (kl/tt);

d là bề dày của lớp chất hấp thụ tính bằng cm.

Thiết bị

Là một máy quang phổ đáp ứng các yêu cầu về kiểm tra độ dài sóng, kiểm tra độ hấp thụ đã nói ở trên và được ghép nối thêm một modul vi phân trở - tụ cho tín hiệu tương tự, hoặc một vi phân kế kỹ thuật số, hoặc một thiết bị khác thích hợp, tạo ra được phổ đạo hàm bậc hai. Máy được sử dụng theo sự hướng dẫn của hãng sản xuất.

Một vài phương pháp tạo phổ đạo hàm bậc hai đưa đến sự trôi sóng so với vị trí của độ dài sóng ở phổ bậc không, điều này cần được tính đến khi cần thiết. Trừ khi có những chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, độ rộng khe phổ của máy phải được điều chỉnh như chỉ dẫn trong mục độ rộng khe phổ ở trên.

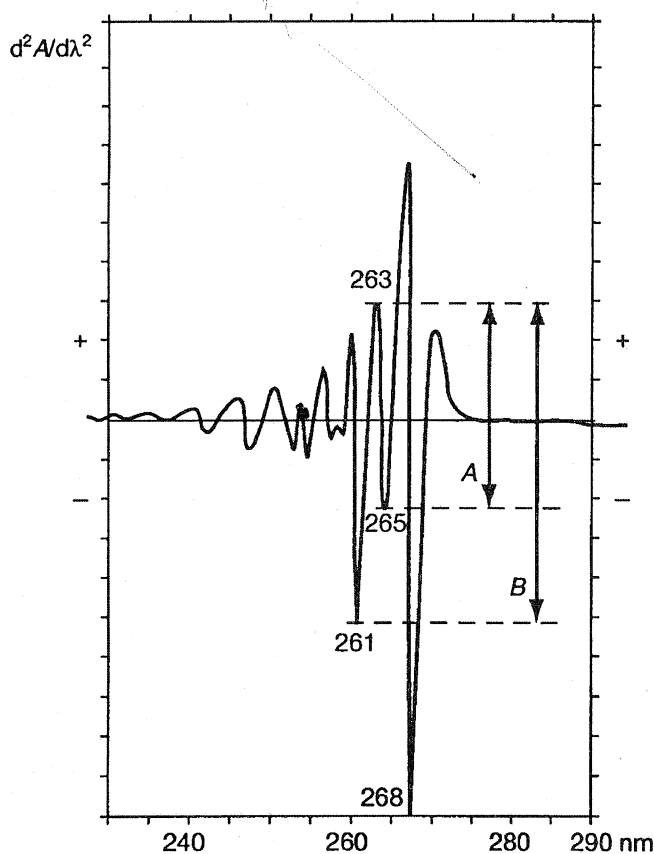
Các công đo phải đáp ứng các yêu cầu quy định trong mục Công đo.

Nhiệt độ của tất cả các dung dịch dùng trong phép thử không được khác nhau quá 0,5 °C.

Độ phân giải

Khi được quy định trong chuyên luận riêng, ta ghi phổ đạo hàm bậc hai của *dung dịch toluen 0,020 % (tt/tt)* trong *methanol (TT)* trong dải độ dài sóng từ 255 nm đến 275 nm, dùng *methanol (TT)* trong công đối chiếu. Phổ phải thấy rõ một cực tiểu nhỏ ở giữa hai cực tiểu lớn trong khoảng 261 nm và 268 nm.

Trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, tỷ lệ A/B giữa khoảng cách A tính từ cực đại tại 263 nm đến cực tiểu tại 265 nm (cực tiểu nhỏ nói trên) với khoảng cách B, tính từ cực đại tại 263 nm nói trên đến cực tiểu tại 261 nm không được nhỏ hơn 0,2 (xem hình 4.1.1).



Hình 4.1.1

4.2 PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HỒNG NGOẠI

Máy quang phổ

Máy quang phổ hồng ngoại dùng để ghi phổ trong vùng từ 4000 cm^{-1} đến 670 cm^{-1} (từ $2,5\text{ }\mu\text{m}$ đến $15\text{ }\mu\text{m}$) hoặc trong một vài trường hợp tới 200 cm^{-1} ($50\text{ }\mu\text{m}$). Máy quang phổ chuyển đổi Fourier sử dụng bức xạ đa sắc và tính toán phổ theo dải tần số từ các dữ liệu gốc bằng chuyển đổi Fourier. Các máy quang phổ với hệ thống quang học tạo bức xạ đơn sắc trong vùng đo cũng có thể được sử dụng.

Thông thường phổ được xem là hàm số của độ truyền quang T ; T là tỷ số của cường độ bức xạ truyền qua và cường độ bức xạ tới.

Độ hấp thụ ánh sáng (A) là logarit thập phân của nghịch đảo độ truyền quang.

$$A = \log_{10} \left(\frac{I}{I_0} \right) = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

$T = I/I_0$;

I_0 là cường độ ánh sáng tới;

I là cường độ ánh sáng truyền qua.

Chuẩn bị mẫu

Để ghi phổ truyền quang hay phổ hấp thụ, chất thử được chuẩn bị theo một trong các phương pháp sau:

Chất lỏng

Đo phổ của một chất lỏng dưới dạng phim giữa 2 tấm phẳng trong suốt đối với bức xạ hồng ngoại hay trong cốc đo có bề dày thích hợp và cũng trong suốt đối với bức xạ hồng ngoại.

Các chất lỏng hay chất rắn chuẩn bị dưới dạng dung dịch

Chuẩn bị dung dịch thử với dung môi thích hợp. Chọn nồng độ và bề dày của cốc đo thích hợp để có thể ghi được một phổ tốt. Nói chung, có thể thu được kết quả tốt với nồng độ từ 1,0 % đến 10 % và bề dày của cốc đo từ 0,5 mm đến 0,1 mm.

Các chất rắn

Đo phổ của chất rắn được phân tán trong một chất lỏng (bột nhão) hay trong một chất rắn thích hợp (đĩa halid). Nếu có quy định trong chuyên luận riêng, làm một phim mỏng từ khối chất rắn nóng chảy giữa hai tấm phẳng trong suốt với bức xạ hồng ngoại.

Bột nhão

Nghiền một lượng nhỏ chất thử với một lượng tối thiểu parafin lỏng hoặc chất lỏng khác phù hợp. Dùng từ 5 mg đến 10 mg chất thử là vừa đủ để tạo một bột nhão phù hợp. Ép bột nhão giữa hai tấm phẳng trong suốt với bức xạ hồng ngoại.

Viên nén (đĩa halid)

Trừ khi có chỉ dẫn khác, nghiền 1 mg đến 2 mg chất thử với 300 mg đến 400 mg bột mịn kali bromid (IR) hoặc kali clorid (IR) đã sấy khô. Lượng này thường đủ để tạo một viên nén có đường kính 13 mm và cho phổ có cường độ phù hợp. Nghiền hỗn hợp cẩn thận và rải đều nó trong một khuôn thích hợp. Nén khuôn có hỗn hợp chất thử tới áp suất khoảng 800 MPa trong điều kiện chân không. Một vài yếu tố có thể tạo nên viên nén không tốt như: Nghiền không kỹ hay nghiền quá kỹ, độ ẩm, các tạp chất trong môi trường phân tán. Viên nén không đạt yêu cầu nếu kiểm tra bằng mắt thấy viên nén không đồng nhất và không trong suốt hay độ truyền quang ở khoảng 2000 cm^{-1} ($5\text{ }\mu\text{m}$) nhỏ hơn 75 % khi không có băng hấp thụ đặc hiệu ở vùng này và không có bù trừ bên tia đối chiếu, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Các chất khí

Ghi phổ các khí trong cốc đo trong suốt với bức xạ hồng ngoại và có quang trình 50 mm đến 100 mm. Đối với các chất khí có hệ số hấp thụ hồng ngoại nhỏ hoặc có ở dạng vết, ta dùng các cốc đo có hệ thống gương, tạo nên sự phản xạ bên trong cốc nhiều lần và do đó có thể đạt quang trình 1 mét hoặc thậm chí đến 10 mét hoặc hơn nữa.

Tạo chân không trong cốc đo và nạp đầy khí đến áp suất yêu cầu nhờ một nút xoay hoặc một van kim với đường chuyển khí thích hợp nối cốc đo với bình chứa khí cần khảo sát. Nếu cần điều chỉnh áp lực trong cốc đo đến áp suất khí quyển, dùng một khí trong suốt với bức xạ hồng ngoại, thí dụ khí nitrogen hay argon. Để tránh ảnh hưởng sự hấp thụ của hơi nước, carbon dioxyd hoặc những khí khác có mặt trong bầu khí quyển, đặt một cốc đo tương tự như cốc đo đựng khí cần khảo sát bên tia đối chiếu. Cốc đo này đã được hút chân không hoặc được nạp khí trong suốt với bức xạ hồng ngoại.

Ghi phổ bằng phản xạ toàn phần suy giảm

Đặt mẫu thử tiếp xúc trực tiếp với lăng kính phản xạ toàn phần suy giảm.

Ghi phổ bằng phản xạ nhiều lần

Khi có chỉ định trong chuyên luận riêng, chuẩn bị chất thử theo các phương pháp sau:

Dung dịch

Hòa tan chất thử trong dung môi thích hợp theo những điều kiện đã được quy định trong chuyên luận riêng. Làm bay hơi dung dịch trên tấm thali bromo-iodid hoặc tấm phẳng khác phù hợp.

Chất rắn

Đặt chất thử trên tấm thali bromo-iodid hoặc trên tấm phẳng khác phù hợp sao cho có sự tiếp xúc đồng đều.

Định tính

Định tính bằng các chất đối chiếu hóa học

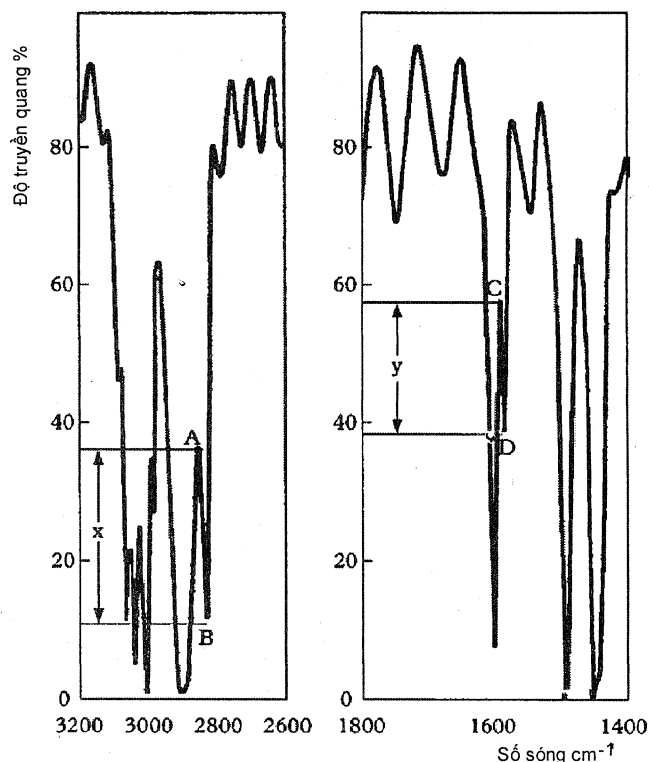
Chuẩn bị chất thử và chất đối chiếu theo cùng một quy trình và ghi phổ từ 4000 cm^{-1} đến 670 cm^{-1} ($2,5\text{ }\mu\text{m}$ đến $15\text{ }\mu\text{m}$) trong những điều kiện như nhau. Cực tiểu độ truyền qua (cực đại hấp thụ) trong phổ của chất thử và chất đối chiếu phải tương ứng về vị trí và cường độ.

Khi phổ của chất thử và của chất đối chiếu ở dạng rắn có sự khác nhau về vị trí của cực tiểu độ truyền qua (cực đại hấp thụ), phải xử lý chất thử và chất đối chiếu theo cùng một cách sao cho chúng kết tinh hay tạo thành cùng dạng, hay tiến hành như mô tả trong chuyên luận riêng rồi mới ghi phổ.

Định tính bằng phổ đối chiếu

Kiểm tra độ phân giải của máy

Ghi phổ của phim polystyren có bề dày $0,04\text{ mm}$. Hiệu số x (Hình 4.2) giữa phần trăm truyền quang tại cực đại truyền qua A ở 2870 cm^{-1} ($3,48\text{ }\mu\text{m}$) và tại cực tiểu truyền qua B ở 2851 cm^{-1} ($3,51\text{ }\mu\text{m}$) phải lớn hơn 18. Hiệu số y giữa phần trăm truyền quang ở cực đại truyền qua C tại 1589 cm^{-1} ($6,29\text{ }\mu\text{m}$) và ở cực tiểu độ truyền qua D tại 1583 cm^{-1} ($6,32\text{ }\mu\text{m}$) phải lớn hơn 12.



Hình 4.2 - Phổ của polystyren dùng để kiểm tra độ phân giải

Kiểm tra thang số sóng

Có thể kiểm tra thang số sóng bằng cách dùng phim polystyren. Phim này có các cực tiểu truyền qua (cực đại hấp thụ) ở các số sóng (tính bằng cm^{-1}) như Bảng 4.2.

Bảng 4.2- Cực tiểu độ truyền qua của phim polystyren và các giới hạn cho phép

$3060,0 (\pm 1,5)\text{ cm}^{-1}$
$2849,5 (\pm 1,5)\text{ cm}^{-1}$
$1942,9 (\pm 1,5)\text{ cm}^{-1}$
$1601,2 (\pm 1,0)\text{ cm}^{-1}$
$1583,0 (\pm 1,0)\text{ cm}^{-1}$
$1154,5 (\pm 1,0)\text{ cm}^{-1}$
$1028,3 (\pm 1,0)\text{ cm}^{-1}$

Phương pháp:

Chuẩn bị chất thử theo chỉ dẫn đi kèm với phổ đối chiếu. Tiến hành trong điều kiện giống như khi kiểm tra độ phân giải, ghi phổ của chất thử và chồng phổ lên các băng của polystyren ở $2849,5\text{ cm}^{-1}$ ($3,51\text{ }\mu\text{m}$), $1601,2\text{ cm}^{-1}$ ($6,25\text{ }\mu\text{m}$) và $1028,3\text{ cm}^{-1}$ ($9,72\text{ }\mu\text{m}$). So sánh phổ chất thử với phổ đối chiếu và với các băng của polystyren như chỉ dẫn trên. Dùng các vị trí của băng polystyren để làm chuẩn, vị trí của các băng có giá trị trong phổ của chất thử và phổ đối chiếu phải tương ứng trong khoảng $0,5\text{ }\%$ thang số sóng. Cường độ tương đối của các băng phải phù hợp giữa 2 phổ.

Phương pháp quang phổ cận hồng ngoại

Phương pháp quang phổ cận hồng ngoại là kỹ thuật đặc biệt hữu ích để định tính các chất hữu cơ. Mặc dù các phổ chỉ giới hạn trong các cộng hưởng của C - H, N - H, O - H và S - H, thường chúng cho các thông tin có giá trị. Tuy vậy, các phổ phụ thuộc vào một số thông số như kích thước hạt, tính đa hình, vết dung môi, độ ẩm ... mà những thông số này không thể luôn được kiểm soát. Vì lý do này, không thể so sánh trực tiếp phổ của chất thử với phổ đối chiếu mà cần xử lý dữ liệu bằng phương pháp toán học đã được thẩm định.

4.3 PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HUỖNH QUANG

Phương pháp quang phổ huỳnh quang là phương pháp phân tích dựa trên phép đo cường độ huỳnh quang phát ra từ một chất hóa học khi nó được kích thích do hấp thụ bức xạ tử ngoại, khả kiến hoặc các bức xạ điện từ khác. Trong phương pháp này, cường độ huỳnh quang của chất thử được so sánh với cường độ huỳnh quang của chất chuẩn đo trong cùng điều kiện.

Máy

Vận hành máy quang phổ huỳnh quang theo chỉ dẫn của hãng sản xuất máy.

Phương pháp tiến hành

Chuẩn bị dung dịch như mô tả trong chuyên luận, chuyển dung dịch vào cốc đo của máy quang phổ huỳnh quang và chiếu vào nó bức xạ kích thích với bước sóng đơn sắc đã được ghi trong chuyên luận. Đo cường độ huỳnh quang của dung dịch ở bước sóng phát huỳnh quang được ghi trong chuyên luận. Để định lượng, đưa vào máy cốc đựng dung môi hoặc hỗn hợp dung môi dùng để hòa tan mẫu thử và điều chỉnh máy về điểm "0". Đưa dung dịch chuẩn đã được chuẩn bị như mô tả trong chuyên luận vào máy và điều chỉnh độ nhạy của máy để kết quả đọc trên thang đo lớn hơn 50. Nếu thay đổi khe sáng khi điều chỉnh lần thứ hai thì phải đặt lại điểm 0 và cường độ huỳnh quang của chuẩn cũng phải được đo lại. Cuối cùng, đưa mẫu thử vào máy, đo cường độ huỳnh quang và tính nồng độ của dung dịch thử theo công thức sau:

$$C_x = (I_x \times C_s) / I_s$$

Trong đó:

C_s và C_x lần lượt là nồng độ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử;

I_s và I_x lần lượt là cường độ huỳnh quang của dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Khi cường độ huỳnh quang không thật sự tỷ lệ thuận với nồng độ, việc định lượng có thể được thực hiện dựa trên đồ thị chuẩn.

Trong một số trường hợp, phép định lượng có thể được so sánh với một mẫu chuẩn đối chiếu có bản chất hóa học khác mẫu thử (Ví dụ: thủy tinh phát huỳnh quang hoặc dung dịch một chất phát huỳnh quang khác với mẫu thử). Trong trường hợp này, nồng độ của chất thử phải được xác định bằng đồ thị chuẩn đo trong cùng điều kiện với mẫu thử.

4.4 PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ NGUYÊN TỬ PHÁT XẠ VÀ HẤP THỤ

Các phương pháp quang phổ nguyên tử phát xạ và hấp thụ được sử dụng để xác định nồng độ của các nguyên tố bằng phép đo cường độ phát xạ hoặc hấp thụ ánh sáng ở bước sóng đặc trưng bởi hơi nguyên tử của nguyên tố được hóa hơi từ chất cần phân tích, ví dụ, bằng cách đưa một dung dịch của chất phân tích vào ngọn lửa.

Phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử

Phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử là phương pháp xác định nồng độ của một nguyên tố trong một chất bằng cách đo cường độ của một trong các vạch phát xạ của hơi nguyên tử của nguyên tố được hóa hơi từ chất đó. Việc xác định nồng độ nguyên tố được tiến hành ở bước sóng tương ứng với các vạch phát xạ này.

Thiết bị

Máy quang phổ phát xạ nguyên tử bao gồm các bộ phận chủ yếu là bộ phận hóa hơi nguyên tử của các nguyên tố cần xác định (ngọn lửa, plasma, hồ quang điện v.v...), bộ đơn sắc hóa và bộ phận phát hiện. Nếu bộ phận hóa hơi là ngọn lửa, nước là dung môi được lựa chọn để pha dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tuy nhiên, dung môi hữu cơ cũng được sử dụng nếu đảm bảo chắc chắn rằng nó không ảnh hưởng đến độ ổn định của ngọn lửa.

Phương pháp tiến hành

Vận hành máy quang phổ phát xạ nguyên tử theo như chỉ dẫn của hãng sản xuất về cách đặt bước sóng quy định. Đưa dung dịch mẫu trắng vào bộ phận hóa hơi nguyên tử và hiệu chỉnh tín hiệu đọc được về "0". Đưa dung dịch chuẩn đặc nhất vào buồng hóa hơi nguyên tử và hiệu chỉnh độ nhạy của máy để có trị giá đọc thích hợp.

Việc định lượng được thực hiện bằng cách so sánh các dung dịch thử chưa biết nồng độ với các dung dịch chuẩn của nguyên tố cần xác định bằng phương pháp xác định trực tiếp (phương pháp 1) hoặc bằng phương pháp thêm chuẩn (phương pháp 2).

Sử dụng phương pháp 1, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Phương pháp 1: Phương pháp xác định trực tiếp

Chuẩn bị dung dịch chất để thử (dung dịch thử) như được mô tả trong chuyên luận riêng sao cho nồng độ của nguyên tố cần xác định nằm trong khoảng nồng độ của các dung dịch chuẩn. Chuẩn bị không ít hơn ba dung dịch chuẩn của nguyên tố cần xác định có nồng độ nằm trong khoảng phụ thuộc tuyến tính giữa nồng độ và cường độ vạch phát xạ của nguyên tố cần phân tích. Bất kỳ thuốc thử nào được dùng trong việc chuẩn bị các dung dịch thử đều phải được thêm vào các dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu trắng ở cùng nồng độ. Đưa dung dịch mẫu trắng vào máy, điều chỉnh tín hiệu đọc được về "0". Đưa lần lượt dung dịch thử và từng dung dịch chuẩn vào máy, ít nhất mỗi dung dịch làm ba lần, ghi lại kết quả đọc ổn định. Rửa máy bằng dung dịch mẫu trắng sau mỗi lần đo cho đến khi tín hiệu trở về giá trị đọc ban đầu của mẫu trắng. Từ cường độ vạch phát xạ đọc được của các dung dịch chuẩn, thiết lập đường chuẩn biểu thị sự thay đổi cường độ vạch phát xạ theo nồng độ nguyên tố cần xác định và từ đường chuẩn này xác định nồng độ nguyên tố trong dung dịch thử.

Phương pháp 2: Phương pháp thêm chuẩn

Cho vào ít nhất ba bình định mức có dung tích như nhau, các thể tích bằng nhau của dung dịch chất đem thử (dung dịch thử) được chuẩn bị như chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm vào tất cả các bình, trừ một bình, các thể tích lớn dần của dung dịch chuẩn có nồng độ đã biết của nguyên tố cần xác định sao cho nồng độ của nguyên tố này trong các bình đều nằm trong khoảng tuyến tính giữa nồng độ và cường độ phát xạ. Pha loãng các dung dịch có chứa trong bình đến vừa đủ thể tích bằng dung môi.

Đưa dung dịch mẫu trắng (dung môi) vào máy, điều chỉnh tín hiệu đọc được về "0". Đưa lần lượt từng dung dịch thử và từng dung dịch chuẩn vào máy, ít nhất mỗi dung dịch làm ba lần, ghi lại kết quả đọc ổn định. Rửa máy bằng dung dịch mẫu trắng sau mỗi lần đo cho đến khi tín hiệu trở về giá trị đọc ban đầu của mẫu trắng. Tính phương trình hồi quy của đường chuẩn bằng cách dùng phương pháp bình phương tối thiểu và từ đường thẳng này, xác định nồng độ của nguyên tố cần định lượng trong dung dịch thử. Một cách khác, vẽ đồ thị biểu diễn sự liên quan giữa giá trị đọc được và lượng thêm vào của nguyên tố cần xác định. Nối các điểm trên đồ thị và kéo dài về phía trái cho đến khi nó gặp trục nồng độ. Khoảng cách giữa điểm này và điểm giao nhau của trục tọa độ là nồng độ của nguyên tố cần xác định trong dung dịch thử.

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử là phương pháp xác định nồng độ của nguyên tố trong một chất bằng cách đo độ hấp thụ bức xạ bởi hơi nguyên tử tự do của nguyên tố đó được hóa hơi từ chất thử. Việc

định lượng được tiến hành ở bước sóng của một trong những vạch hấp thụ của nguyên tố cần xác định.

Thiết bị

Máy quang phổ hấp thụ nguyên tử chủ yếu bao gồm nguồn bức xạ, bộ phận hóa hơi nguyên tử của nguyên tố cần xác định (ngọn lửa, lò graphit v.v...), bộ đơn sắc hóa và bộ phận phát hiện.

Phương pháp đưa các chất vào để phân tích phụ thuộc vào kỹ thuật nguyên tử hóa mẫu. Nếu nguyên tử hóa bằng ngọn lửa, các chất sẽ được hóa hơi và nước là dung môi được chọn để chuẩn bị các dung dịch chuẩn và thử, tuy nhiên các dung môi hữu cơ cũng có thể được sử dụng nếu đảm bảo chắc chắn là dung môi không ảnh hưởng đến độ ổn định của ngọn lửa. Nếu nguyên tử hóa không ngọn lửa (sử dụng lò graphit), các chất đưa vào có thể được hòa tan trong nước hoặc trong dung môi hữu cơ.

Quá trình hóa hơi nguyên tử cũng có thể được tạo ra bên ngoài máy quang phổ, ví dụ, phương pháp hóa hơi lạnh cho thủy ngân hoặc một số hydrid. Đối với thủy ngân, nguyên tử được hóa hơi bằng sự khử hóa học và hơi nguyên tử được dẫn bằng một dòng khí trơ đến một cốc đo đặt trên trục quang của máy. Các hydrid được dẫn bằng hỗn hợp khí đốt hoặc bằng khí trơ đến một cốc đo đã được đốt nóng, tại đây chúng được nguyên tử hóa.

Phương pháp tiến hành

Vận hành máy quang phổ hấp thụ nguyên tử theo các chỉ dẫn của hãng sản xuất máy về cách đặt bước sóng quy định. Đưa dung dịch mẫu trắng vào buồng hóa hơi nguyên tử và hiệu chỉnh kết quả sao cho độ hấp thụ đọc được trên máy bằng "0". Đưa dung dịch chuẩn có nồng độ lớn nhất vào máy và hiệu chỉnh độ nhạy để đạt được một phép đọc độ hấp thụ thích hợp.

Việc định lượng được thực hiện bằng cách so sánh với các dung dịch chuẩn đã biết nồng độ của nguyên tố cần xác định bằng phương pháp xác định trực tiếp (phương pháp 1) hoặc bằng phương pháp thêm chuẩn (phương pháp 2).

Sử dụng phương pháp 1 trừ khi có chỉ dẫn khác.

Phương pháp 1: Phương pháp xác định trực tiếp

Chuẩn bị dung dịch chất để thử (dung dịch thử) như được mô tả trong chuyên luận riêng sao cho nồng độ của nguyên tố cần xác định nằm trong khoảng nồng độ của các dung dịch chuẩn. Chuẩn bị không ít hơn ba dung dịch chuẩn của nguyên tố cần xác định có nồng độ nằm trong khoảng tuyến tính giữa nồng độ và độ hấp thụ của nguyên tố cần phân tích. Bất kỳ thuốc thử nào được dùng trong việc chuẩn bị các dung dịch thử đều phải được thêm vào các dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu trắng ở cùng nồng độ. Đưa dung dịch mẫu trắng vào máy, điều chỉnh tín hiệu đọc được về "0". Đưa lần lượt dung dịch thử và từng dung dịch chuẩn

vào máy, ít nhất mỗi dung dịch làm ba lần, ghi lại kết quả đọc ổn định. Rửa máy bằng dung dịch mẫu trắng sau mỗi lần đo cho đến khi tín hiệu trở về giá trị đọc ban đầu của mẫu trắng. Nếu sử dụng kỹ thuật nguyên tử hóa không ngọn lửa, lò graphit phải được đốt lại giữa các lần phân tích. Từ cường độ vạch hấp thụ đọc được của các dung dịch chuẩn, thiết lập đường chuẩn biểu thị sự thay đổi cường độ vạch hấp thụ theo nồng độ nguyên tố cần xác định và từ đường chuẩn này xác định nồng độ nguyên tố trong dung dịch thử.

Phương pháp 2: Phương pháp thêm chuẩn

Cho vào ít nhất ba bình định mức có dung tích như nhau, các thể tích bằng nhau của dung dịch chất đem thử (dung dịch thử) được chuẩn bị như chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm vào tất cả các bình, trừ một bình, các thể tích lớn dần của dung dịch chuẩn có nồng độ đã biết của nguyên tố cần xác định sao cho nồng độ của nguyên tố cần xác định trong các bình đều nằm trong khoảng tuyến tính giữa nồng độ và cường độ hấp thụ. Pha loãng các dung dịch có chứa trong bình đến vừa đủ thể tích bằng dung môi.

Đưa dung dịch mẫu trắng vào máy, điều chỉnh tín hiệu đọc được về "0". Đưa lần lượt dung dịch thử và từng dung dịch chuẩn vào máy, ít nhất mỗi dung dịch ba lần, ghi lại kết quả đọc ổn định. Rửa máy bằng dung dịch mẫu trắng sau mỗi lần đo cho đến khi tín hiệu trở về giá trị đọc ban đầu của mẫu trắng. Nếu sử dụng kỹ thuật nguyên tử hóa không ngọn lửa, lò graphit phải được đốt lại giữa các lần phân tích.

Tính phương trình hồi quy của đường chuẩn bằng cách dùng phương pháp bình phương tối thiểu và từ đường thẳng này, xác định nồng độ của nguyên tố cần định lượng trong dung dịch thử. Một cách khác, vẽ đồ thị biểu diễn sự liên quan giữa giá trị đọc được và lượng thêm vào của nguyên tố cần xác định. Nối các điểm trên đồ thị và kéo dài về phía trái cho đến khi nó gặp trục nồng độ. Khoảng cách giữa điểm này và điểm giao nhau của trục tọa độ là nồng độ của nguyên tố cần xác định trong dung dịch thử.

PHỤ LỤC 5

CÁC KỸ THUẬT TÁCH SẮC KÝ

Các kỹ thuật tách sắc ký là những phương pháp tách trong đó các thành phần của mẫu được phân bố vào hai pha: một pha tĩnh và một pha động. Pha tĩnh có thể là một chất rắn, cũng có thể là một chất lỏng được giữ trên một chất rắn hay một gel. Pha tĩnh có thể được nhồi vào một cột, hoặc trải thành một lớp, hay phân tán thành một lớp phim v.v... Pha động có thể là chất khí, chất lỏng hay chất lưu siêu tới hạn (còn được gọi là chất lỏng siêu tới hạn). Sự tách sắc ký có thể dựa trên các cơ chế khác nhau như hấp phụ, phân bố khối lượng (hay phân chia), trao đổi ion, hoặc dựa trên sự khác nhau về các tính chất lý hóa của các phân tử như kích thước, khối lượng, thể tích, v.v...

Phụ lục này chỉ đề cập tới các định nghĩa và phép tính các thông số thông thường trong các kỹ thuật sắc ký, các yêu cầu thường được áp dụng cho tính phù hợp của hệ thống sắc ký. Nguyên lý, thiết bị và phương pháp tách được trình bày trong các phương pháp thử chung:

- Phương pháp sắc ký giấy (Phụ lục 5.1)
- Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2)
- Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
- Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
- Phương pháp sắc ký rây phân tử (Phụ lục 5.5)

Định nghĩa

Các định nghĩa sau đây được dùng trong các chuyên luận để tính toán các thông số.

Một số thiết bị có phần mềm của nhà sản xuất dùng để tính toán một vài thông số như tỷ số tín hiệu trên nhiễu. Trong trường hợp này, người sử dụng có trách nhiệm đảm bảo rằng các phương pháp dùng trong phần mềm đó phù hợp với yêu cầu của Bộ tiêu chuẩn này; nếu không, phải điều chỉnh cho phù hợp.

Sắc đồ

Sắc đồ là một đồ thị hay một cách trình bày khác mô tả sự thay đổi của đáp ứng của detector (hay nồng độ của chất hay một đại lượng khác dùng làm thước đo nồng độ của chất) theo thời gian, thể tích hay khoảng cách. Một sắc đồ lý tưởng có dạng một chuỗi các pic kiểu Gauss trên một đường nền.

Các thông số chỉ sự lưu giữ**Thời gian lưu và thể tích lưu**

Trong sắc ký rửa giải, sự lưu giữ của một chất có thể được biết dưới dạng thời gian lưu t_R . Thời gian lưu được xác định trực tiếp trên sắc đồ bởi vị trí của đỉnh

pic. Từ thời gian lưu có thể tính được thể tích lưu V_R dựa trên công thức:

$$V_R = v \times t_R$$

Trong đó:

t_R (thời gian lưu) là khoảng cách trên đường nền từ điểm tiêm mẫu đến đường thẳng đứng kẻ từ đỉnh pic của chất;

v (tốc độ dòng) là lưu lượng của dòng pha động.

Hệ số phân bố khối lượng

Hệ số phân bố D_m còn được gọi là thừa số dung lượng k' hay thừa số lưu giữ k được định nghĩa và tính theo công thức sau:

$$D_m = k' = \frac{Q_s}{Q_M} = K_C \frac{V_s}{V_M}$$

Trong đó:

Q_s và Q_M lần lượt là lượng chất tan trong pha tĩnh và pha động;

V_s và V_M lần lượt là thể tích pha tĩnh và pha động;

K_C là hệ số phân bố cân bằng, còn gọi là hằng số phân bố.

Hệ số phân bố khối lượng của một chất có thể xác định từ sắc đồ theo công thức:

$$D_m = k' = \frac{t_R - t_M}{t_M}$$

Trong đó:

t_R (thời gian lưu hay thể tích lưu), là khoảng cách trên đường nền từ điểm tiêm mẫu đến đường thẳng đứng kẻ từ đỉnh pic của chất;

t_M (thời gian chết hay thể tích rỗng), là khoảng cách trên đường nền từ điểm tiêm mẫu đến đường thẳng đứng kẻ từ đỉnh pic của một chất không bị lưu giữ.

Hệ số phân bố

Trong sắc ký trên gel, đặc tính rửa giải của một chất có thể biểu thị dưới dạng hệ số phân bố K_o và được tính theo công thức:

$$K_o = \frac{t_R - t_o}{t_t - t_o}$$

Trong đó:

t_R (thời gian lưu hay thể tích lưu), là khoảng cách trên đường nền từ điểm tiêm mẫu đến đường thẳng đứng kẻ từ đỉnh pic của chất;

t_o (thời gian chết hay thể tích rỗng), là khoảng cách trên đường nền từ điểm tiêm mẫu đến đường thẳng đứng kẻ từ đỉnh pic của một chất không bị lưu giữ;

t_t (thời gian lưu hay thể tích lưu), là khoảng cách trên đường nền từ điểm tiêm mẫu đến đường thẳng đứng kẻ từ đỉnh pic của chất có thể tiếp cận đầy đủ các lỗ xốp của pha tĩnh.

Thừa số chậm

Thừa số chậm R_F (còn được gọi là hệ số di chuyển R_f), được dùng trong sắc ký trên mặt phẳng (sắc ký lớp mỏng, sắc ký giấy) đó là tỷ số giữa khoảng cách từ điểm chấm mẫu đến tâm của vết sắc ký và khoảng cách di chuyển của dung môi tính từ điểm chấm mẫu.

$$R_F = \frac{b}{a}$$

Trong đó:

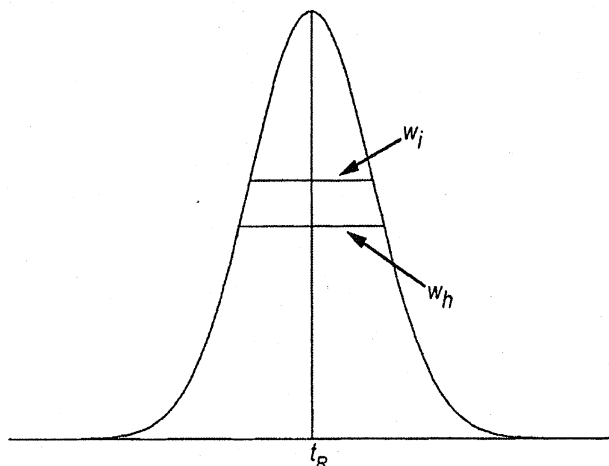
b là quãng đường di chuyển của chất phân tích;

a là quãng đường di chuyển của tuyến dung môi.

Các thông số về sắc ký**Pic sắc ký**

Pic của một chất có thể được xác định bởi diện tích pic (A), hay chiều cao pic (h), và chiều rộng của pic ở nửa chiều cao (w_h) hoặc chiều cao pic (h) và chiều rộng pic ở điểm uốn (w_i). Với các pic dạng Gauss (hình 5.a) ta có hệ thức:

$$w_h = 1,18 w_i$$



Hình 5.a

Hệ số đối xứng

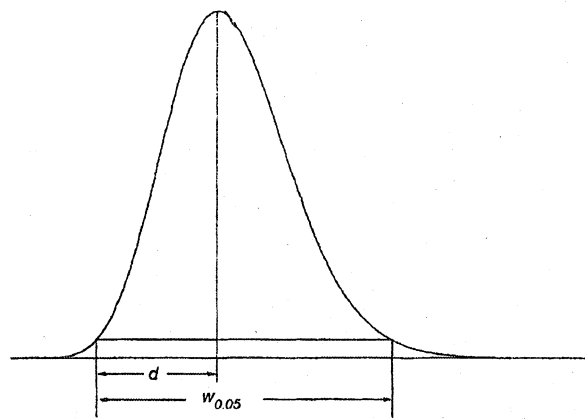
Hệ số đối xứng (A_s) (hay hệ số kéo đuôi) của một pic Hình 5.b được tính theo công thức:

$$A_s = \frac{w_{0,05}}{2d}$$

Trong đó:

$w_{0,05}$ là chiều rộng của pic ở 1/20 chiều cao của pic;
 d là khoảng cách từ đường thẳng đứng đi qua đỉnh pic đến cạnh phía trước của pic ở 1/20 chiều cao của pic.

Khi $A_s = 1,0$ thì pic hoàn toàn đối xứng (lý tưởng).



Hình 5.b

Hiệu năng của cột và số đĩa lý thuyết biểu kiến

Tùy theo kỹ thuật được sử dụng, dựa trên các dữ liệu thu được trong điều kiện đẳng nhiệt, đẳng dòng hay đẳng mật độ, hiệu năng của cột (hay hiệu lực biểu kiến của cột), biểu thị dưới dạng số đĩa lý thuyết biểu kiến (N), có thể tính được theo công thức dưới đây:

$$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{w_h} \right)^2$$

Trong đó:

t_R là thời gian lưu hay thể tích lưu hay khoảng cách trên đường nền từ điểm tiêm mẫu đến đường thẳng góc kẻ qua đỉnh pic tương ứng với chất;

w_h là chiều rộng của pic ở nửa chiều cao pic tính theo cùng đơn vị đo t_R (thời gian, thể tích hay khoảng cách).

Số đĩa lý thuyết biểu kiến thay đổi theo chất, theo cột cũng như theo thời gian lưu.

Các thông số về sự tách sắc ký**Độ phân giải**

Độ phân giải (R_s) giữa hai pic của hai chất được tính theo công thức:

$$R_s = \frac{1,18(t_{R2} - t_{R1})}{w_{h1} + w_{h2}}$$

Trong đó:

t_{R1} và t_{R2} là thời gian lưu, hay khoảng cách trên đường nền từ điểm tiêm mẫu đến đường thẳng góc kẻ qua hai đỉnh pic tương ứng với hai chất cạnh nhau;

w_{h1} và w_{h2} là chiều rộng của hai pic ở nửa chiều cao của pic tương ứng.

Độ phân giải lớn hơn 1,5 thì hai pic được tách đến đường nền. Công thức cho ở trên có thể không đúng khi các pic không được tách trên đường nền.

Trong sắc ký trên mặt phẳng, thay cho thời gian lưu, người ta sử dụng quãng đường dịch chuyển và độ phân giải được tính theo công thức:

$$R_s = \frac{1,18a(R_{F2} - R_{F1})}{w_{h1} + w_{h2}}$$

Trong đó:

R_{F1} và R_{F2} là các thừa số chậm (hay hệ số di chuyển) của hai chất;

w_{h1} và w_{h2} là chiều rộng của hai pic ở nửa chiều cao của pic tương ứng;

a là quãng đường dịch chuyển của dung môi.

Công thức này chỉ áp dụng cho trường hợp sắc độ các vết sắc ký trên mặt phẳng đã được quét và chuyển sang dạng các pic sắc ký.

Tỷ số đỉnh-hõm

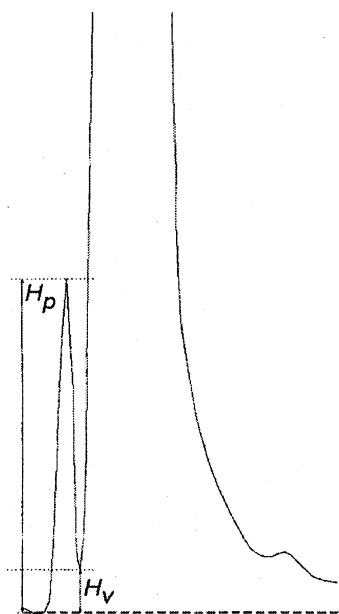
Tỷ số đỉnh-hõm (p/v) có thể được dùng như một thông số của tính phù hợp của hệ thống trong phép thử các tạp chất liên quan khi hai pic không được tách đến đường nền (xem hình 5.c).

$$p/v = \frac{H_p}{H_v}$$

Trong đó:

H_p là chiều cao của đỉnh pic nhỏ so với đường nền ngoại suy;

H_v là chiều cao của đáy hõm tách hai pic lớn và nhỏ.



Hình 5.c

Độ lưu giữ tỷ đối

Độ lưu giữ tỷ đối (r), còn gọi là thừa số chọn lọc (α), có thể ước lượng theo công thức sau:

$$r = \alpha = \frac{t_{R2} - t_M}{t_{R1} - t_M}$$

Trong đó:

t_{R2} là thời gian lưu của pic chất được quan tâm;

t_{R1} là thời gian lưu của chất đối chiếu (thường là pic của chất cần thử);

t_M là thời gian chết (hay thể tích rỗng), là khoảng cách trên đường nền từ điểm tiêm mẫu đến đường thẳng đứng kẻ từ đỉnh pic của một chất không bị lưu giữ.

Độ lưu giữ tỷ đối chưa hiệu chỉnh (r_G) được tính theo công thức:

$$r_G = \frac{t_{R2}}{t_{R1}}$$

Trừ khi có hướng dẫn khác, các trị giá độ lưu giữ tỷ đối cho trong các chuyên luận là độ lưu giữ tỷ đối chưa hiệu chỉnh.

Trong sắc ký trên mặt phẳng, các thừa số chậm (hệ số di chuyển) R_{F2} và R_{F1} được dùng thay cho các thời gian lưu t_{R2} và t_{R1} .

Độ chụm của kết quả định lượng

Tỷ số tín hiệu trên nhiễu

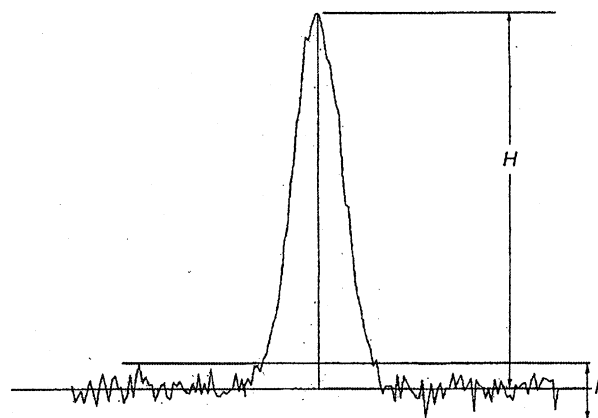
Tỷ số tín hiệu trên nhiễu (S/N) ảnh hưởng đến độ chụm (precision) của kết quả định lượng và có thể tính theo công thức:

$$S/N = \frac{2H}{h}$$

Trong đó:

H là chiều cao của pic (Hình 5.d) ứng với chất khảo sát trên sắc độ thu được với dung dịch chất đối chiếu đã định, chiều cao này được đo từ đỉnh pic đến đường nền ngoại suy trên một khoảng bằng 20 lần chiều rộng của pic ở nửa chiều cao của pic;

h là khoảng dao động của nhiễu đường nền trên sắc độ thu được sau khi tiêm một mẫu trắng, khoảng dao động này được xác định trên một quãng đường bằng 20 lần chiều rộng của pic ở nửa chiều cao của pic trên sắc độ thu được khi tiêm dung dịch chất đối chiếu đã định và nếu có thể thì khoảng đường này phân bố đều hai bên vị trí của pic của chất nghiên cứu.



Hình 5.d

Độ lặp lại

Độ lặp lại của đáp ứng được biểu thị dưới dạng độ lệch chuẩn tương đối % (RSD%) của của một dãy liên tiếp các kết quả phép tiêm và đo rồi tính theo công thức:

$$RSD\% = \frac{100}{\bar{y}} \sqrt{\frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n-1}}$$

Trong đó:

y_i là các giá trị cá thể dưới dạng diện tích pic hay chiều cao pic hay tỷ số các diện tích trong phương pháp nội chuẩn;

$\bar{y}$ là trung bình của các giá trị cá thể;

n là số các giá trị cá thể.

Với một dãy lần tiêm dung dịch đối chiếu, cho những giới hạn xác định, giá trị cực đại của độ lệch chuẩn tương đối ($RSD_{\max}$) có thể tính được theo công thức sau:

$$RSD_{\max} = \frac{KB\sqrt{n}}{t_{90\%,n-1}}$$

Trong đó:

K là hằng số (0,349), tính được từ biểu thức

$$K = \frac{0,6}{\sqrt{2}} \times \frac{t_{90\%,5}}{\sqrt{6}} \text{ trong đó } \frac{0,6}{\sqrt{2}} \text{ là RSD yêu cầu cho}$$

$B = 1,0$ sau 6 lần tiêm;

B là giới hạn trên đưa ra trong phân quy định hàm lượng hoạt chất của chuyên luận riêng trừ đi 100 phần trăm;

n là số dung dịch đối chiếu ($3 \leq n \leq 6$);

$t_{90\%,n-1}$ là t trong bảng Student với mức xác suất 90 % (hai chiều) và $n-1$ bậc tự do.

Tính phù hợp của hệ thống

Các phép thử tính phù hợp của hệ thống là phần không thể thiếu của một phương pháp và được dùng để đảm bảo hệ thống sắc ký có hiệu năng phù hợp. Hiệu lực biểu kiến, tỷ số phân bố khối lượng, độ lưu giữ tỷ đối và hệ số đối xứng là những thông số thường được dùng để đánh giá hiệu năng của cột. Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến đặc tính sắc ký bao gồm thành phần pha động, sức ion, nhiệt độ và pH biểu kiến của pha động, lưu lượng, chiều dài cột, nhiệt độ và áp suất, và các đặc tính của pha tĩnh, mức biến đổi hóa học như độ xốp (cỡ lỗ), cỡ hạt, kiểu các hạt, diện tích bề mặt riêng, và trong trường hợp pha đảo là mức độ biến đổi hóa học [được biểu diễn dưới dạng mức độ khóa đầu (end-capping) hay tải lượng carbon, v.v..].

Các bộ phận cấu thành của máy phải có khả năng đáp ứng yêu cầu về độ chụm khi tiến hành phép thử hay định lượng.

Nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận thì hệ thống phải đạt các yêu cầu sau đây:

Hệ số đối xứng của pic chính phải trong khoảng 0,8 - 1,5, trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận. Yêu cầu này được áp dụng rộng rãi cho các phép thử và định lượng trong các chuyên luận.

Độ lệch chuẩn tối đa được phép cho các lần tiêm lặp lại của dung dịch đối chiếu không được vượt quá các trị giá cho trong bảng 5.a. Yêu cầu này chỉ áp dụng cho các phép định lượng và không áp dụng cho phép thử tạp chất liên quan.

Giới hạn phát hiện pic (ứng với tỷ số tín hiệu trên nhiễu là 3) là nhỏ hơn giới hạn có thể bỏ qua của các tạp chất liên quan.

Giới hạn định lượng của pic (ứng với tỷ số tín hiệu trên nhiễu là 10) thì nhỏ hơn hoặc bằng giới hạn có thể bỏ qua của các tạp chất liên quan.

Bảng 5.a - Yêu cầu về độ lặp lại

Số lần tiêm				
	3	4	5	6
B (%)	Độ lệch chuẩn tối đa được phép			
2,0	0,41	0,59	0,73	0,85
2,5	0,52	0,74	0,92	1,06
3,0	0,63	0,89	1,10	1,27

Yêu cầu về tính phù hợp của hệ thống cho các chuyên luận không có trong Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc: Trừ khi có chỉ dẫn riêng trong chuyên luận, độ lệch chuẩn tối đa được phép cho các lần tiêm lặp lại là 2,0 %. Yêu cầu này chỉ áp dụng cho các phép định lượng.

Điều chỉnh các điều kiện sắc ký

Để thỏa mãn các tiêu chí trong yêu cầu về tính phù hợp của hệ thống, mà không làm thay đổi cơ bản phương pháp, có thể điều chỉnh các thông số sắc ký trong phạm vi nêu trong bảng cho dưới đây để tham khảo. Các điều kiện sắc ký đã được thẩm định trong quá trình xây dựng chuyên luận. Các phép thử tính phù hợp của hệ thống được đưa vào để đảm bảo yêu cầu về tách cho phép thử hay phép định lượng đạt chất lượng mong muốn. Tuy nhiên, vì pha tĩnh chỉ được mô tả một cách chung chung, và trên thị trường lại có nhiều loại pha tĩnh có những đặc tính sắc ký khác nhau, nên có thể cần điều chỉnh một số điều kiện sắc ký để đạt các yêu cầu của tính phù hợp của hệ thống. Đặc biệt trong phương pháp sắc ký pha đảo, việc thay đổi các thông số sắc ký không phải lúc nào cũng cho kết quả tách thỏa đáng. Trong trường hợp này, có thể phải thay cột khác cùng loại, ví dụ một cột silica gel gắn C18 khác mà có thể cho kết quả mong muốn.

Với các thông số quan trọng, việc điều chỉnh được xác định rõ ràng trong chuyên luận để đảm bảo tính phù hợp của hệ thống.

Nên tránh điều chỉnh nhiều thứ một lúc vì có thể gây tác động tích lũy trên hiệu năng của hệ thống.

Sắc ký lớp mỏng và sắc ký giấy

Thành phần pha động: Lượng thành phần dung môi nhỏ có thể điều chỉnh $\pm 30\%$ nồng độ tương đối hay $\pm 2\%$ nồng độ tuyệt đối tùy theo cái nào lớn hơn. Ví dụ với dung môi thành phần nhỏ cỡ 10% của pha động thì thay đổi 30% tương đối nghĩa là nồng độ trong khoảng 7% đến 13% trong khi thay đổi 2% nồng độ tuyệt đối nghĩa là nồng độ trong khoảng 8% đến 12% ; như vậy khoảng theo nồng độ tương đối lớn hơn; nếu thành phần dung môi nhỏ là 5% thì thay đổi 30% tương đối nghĩa là trong khoảng $3,5\%$ đến $6,5\%$ và thay đổi 2% nồng độ tuyệt đối nghĩa là trong khoảng 3% đến 7% , trong trường hợp này khoảng theo nồng độ tuyệt đối lớn hơn. Không thành phần dung môi nào được thay đổi lớn hơn 10% nồng độ tuyệt đối.

pH của thành phần nước trong pha động: Chỉ điều chỉnh thay đổi $\pm 0,2$ đơn vị pH trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận, hay thay đổi ± 1 đơn vị pH khi nghiên cứu các chất trung tính.

Nồng độ muối trong thành phần đệm của pha động: được thay đổi $\pm 10\%$

Thể tích mẫu chấm sắc ký điều chỉnh trong khoảng 10% đến 20% của thể tích quy định nếu sử dụng bản mỏng cỡ hạt nhỏ ($2\mu\text{m}$ đến $10\mu\text{m}$).

Khoảng dịch chuyển của tuyến dung môi không được dưới 50 mm và với bản mỏng hiệu năng cao thì không được dưới 30 mm .

Sắc ký lỏng

Thành phần pha động: Lượng thành phần dung môi nhỏ có thể điều chỉnh $\pm 30\%$ nồng độ tương đối hay $\pm 2\%$ nồng độ tuyệt đối tùy theo trị số nào lớn hơn. (Xem ví dụ ở trên). Không thành phần dung môi nào được thay đổi lớn hơn 10% nồng độ tuyệt đối.

Nồng độ muối trong thành phần đệm của pha động: Được thay đổi $\pm 10\%$.

Bước sóng detector: Không được điều chỉnh.

Pha tĩnh:

Chiều dài cột: $\pm 70\%$

Đường kính trong của cột: $\pm 25\%$

Cỡ hạt: Giảm tối đa 50% và không được phép tăng.

Tốc độ dòng: $\pm 50\%$. Khi trong chuyên luận cho thời gian lưu của pic chính, thì phải thay đổi lưu lượng dung môi nếu đã thay đổi đường kính trong của cột. Không được giảm lưu lượng dung môi nếu trong chuyên luận sử dụng số đĩa lý thuyết biểu kiến trong phần đánh giá chất lượng.

Nhiệt độ: $\pm 10\%$, tối đa là 60°C .

Thể tích tiêm: Có thể giảm nếu giới hạn phát hiện và độ lặp lại của các pic được xác định là thỏa đáng.

Rửa giải gradient: Cấu hình của thiết bị dùng có thể thay đổi đáng kể độ phân giải, thời gian lưu và thời gian lưu tỷ đối đã nêu trong phương pháp. Nếu điều này xảy ra thì có thể do thể tích dung môi cư trú (dwell volume) quá lớn. Thể tích dung môi cư trú là thể tích giữa điểm hai dung môi rửa giải gặp nhau và điểm đầu cột.

Sắc ký khí

Pha tĩnh:

Chiều dài cột: $\pm 70\%$

Đường kính trong của cột: $\pm 25\%$

Cỡ hạt: Giảm tối đa 50% và không được phép tăng

Bề dày lớp phim: Giảm 50% đến tăng 100% .

Lưu lượng pha động: $\pm 50\%$.

Nhiệt độ: $\pm 10\%$.

Thể tích tiêm có thể giảm nếu giới hạn phát hiện và độ lặp lại của các pic được xác định là thỏa đáng.

Định lượng

Đáp ứng detector: Độ nhạy của detector là tín hiệu đầu ra khi một đơn vị nồng độ hay một đơn vị khối lượng trong pha động đi vào detector. Hệ số đáp ứng tương đối của detector, thường được gọi là *hệ số đáp ứng*, biểu thị độ nhạy của một detector đối với một chất chuẩn. *Hệ số hiệu chỉnh* là nghịch đảo của hệ số đáp ứng.

Phương pháp chuẩn ngoại: Nồng độ các thành phần cần phân tích được xác định bằng cách so sánh (các) đáp ứng pic của dung dịch thử với đáp ứng pic của dung dịch chất đối chiếu.

Phương pháp chuẩn nội: Chất chuẩn nội phải là một chất có thể tách khỏi chất khảo sát. Thêm cùng lượng chuẩn nội vào dung dịch thử và dung dịch chất đối chiếu. Chất chuẩn nội không được có phản ứng với chất khảo sát, phải bền và không chứa tạp có thời gian lưu tương tự thời gian lưu chất khảo sát. Nồng độ chất khảo sát được xác định dựa vào việc so sánh tỷ số diện tích pic (hay chiều cao pic) giữa chất khảo sát và chuẩn nội trong dung dịch thử với tỷ số diện tích pic (hay chiều cao pic) giữa chất khảo sát và chuẩn nội trong dung dịch chất đối chiếu.

Quy trình chuẩn hóa: Còn gọi là phương pháp chuẩn hóa. Hàm lượng phần trăm của một hay nhiều thành phần trong chất thử được tính bằng cách xác định diện tích một pic hay nhiều pic dưới dạng % của tổng diện tích tất cả các pic trừ các pic của dung môi hay thuốc thử và các pic ở dưới mức có thể bỏ qua.

Quy trình hiệu chuẩn: Còn gọi là phương pháp đường chuẩn. Xác định mối quan hệ giữa tín hiệu đo được hay đánh giá được (y) và lượng (nồng độ, khối lượng, vv.) của chất (x) rồi tính hàm hiệu chuẩn (phương trình đường chuẩn). Tính kết quả phân tích từ tín hiệu

của chất phân tích (được đo hay được đánh giá) theo phương pháp hàm số ngược.

Trong các chuyên luận thường cho các phương pháp định lượng khác nhau như phương pháp chuẩn ngoại, phương pháp chuẩn nội, quy trình hiệu chuẩn (phương pháp đường chuẩn) nhưng ít khi dùng quy trình chuẩn hóa (phương pháp chuẩn hóa). Trong các phép thử tạp chất liên quan, người ta dùng hoặc phương pháp chuẩn ngoại với một dung dịch đối chiếu, hoặc dùng quy trình chuẩn hóa. Tuy vậy trong cả hai phương pháp chuẩn ngoại và chuẩn hóa, nếu phải pha loãng một dung dịch chất thử để so sánh thì hệ số đáp ứng của các tạp chất liên quan phải xấp xỉ đáp ứng của bản thân chất phân tích (hệ số đáp ứng 0,8 - 1,2), nếu không thì phải dùng hệ số hiệu chỉnh.

Khi trong chuyên luận có quy định phép thử các tạp chất liên quan là tổng các tạp chất hay khi phải định lượng một tạp chất thì điều quan trọng là phải chọn một ngưỡng thích hợp và các điều kiện thích hợp cho việc lấy tích phân các diện tích pic. Trong các phép thử như vậy thì *ngưỡng bỏ qua* (nghĩa là các diện tích pic dưới ngưỡng này không được tính đến) thường là 0,05 %. Như thế, ngưỡng đặt cho hệ thống thu thập dữ liệu ít nhất phải là nửa ngưỡng bỏ qua. Việc lấy tích phân các diện tích pic của các tạp không được tách hoàn toàn khỏi pic chính nên được thực hiện theo phương pháp ngoại suy từ hõm tới hõm (vạch tiếp tuyến). Các pic của dung môi hòa tan mẫu cũng được bỏ qua.

5.1 PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ GIẤY

Phương pháp sắc ký giấy, cũng như phương pháp sắc ký lớp mỏng, được áp dụng trong kiểm nghiệm chất lượng thuốc để định tính, thử tinh khiết và đôi khi để bán định lượng và định lượng.

Sự tách các chất bằng phương pháp sắc ký giấy dựa chủ yếu trên sự khác nhau về hệ số phân bố của chúng giữa hai pha lỏng: Một pha tĩnh và một pha động. Pha tĩnh ở đây là nước có sẵn trong sợi cellulose của giấy, hoặc thành phần thân nước từ hỗn hợp dung môi của pha động được hút chọn lọc vào giấy. Pha động là một hệ dung môi thích hợp cho sự tách đã được quy định trong các chuyên luận.

Mức độ di chuyển của một chất được đặc trưng bởi hệ số di chuyển (R_f) và tính bằng tỷ lệ giữa khoảng cách di chuyển của chất đó và khoảng cách di chuyển của dung môi:

$$R_f = a/b.$$

Trong đó:

a là khoảng cách di chuyển của chất phân tích;

b là khoảng cách di chuyển của dung môi tính từ điểm chấm mẫu.

Giá trị R_f bao giờ cũng nhỏ hơn 1.

Trong trường hợp sắc ký liên tục không còn xác định được giới tuyến của dung môi, người ta dùng hệ số di chuyển R_r . R_r là tỷ số giữa khoảng cách di chuyển của chất phân tích và khoảng cách di chuyển của chất dùng làm chuẩn so sánh. Giá trị R_r có thể nhỏ hơn hay lớn hơn 1.

Cách tiến hành

Chuẩn bị bình sắc ký: Bình sắc ký là những bình thủy tinh hình trụ hoặc hình hộp dẹt, có kích thước thích hợp, có nắp đậy kín. Nắp có lỗ ở giữa để lắp bình gạn có khóa đựng dung môi. Trong bình có các giá đỡ máng đựng dung môi và treo giấy sắc ký được thiết kế thích hợp cho kiểu sắc ký đi lên hay sắc ký đi xuống.

Chuẩn bị dung môi: Thành phần và tỷ lệ các dung môi được quy định trong các chuyên luận. Việc trộn các thành phần được tiến hành trong bình gạn, sau khi lắc đều, để yên. Nếu có tách lớp thì gạn lấy lớp pha thân nước, thường là lớp dưới, làm dung môi pha tĩnh để bão hòa giấy sắc ký sau khi đã chấm các chất phân tích, còn lớp trên dùng làm dung môi pha động. Nếu dung môi không tách lớp thì dùng chính dung môi đó để bão hòa giấy sắc ký.

Chuẩn bị giấy: Giấy sắc ký là loại giấy đặc biệt dành riêng cho sắc ký, có bề dày thích hợp. Tùy theo kích thước của bình và số lượng các vết cần chấm mà cắt những khổ giấy hình chữ nhật thích hợp, chiều dài dọc theo thớ giấy. Chiều rộng phải nhỏ hơn chiều dài của máng dung môi nhưng không được nhỏ hơn 2,5 cm. Bề dài phải tính sao cho khi treo giấy vào bình không được để đầu dưới chạm vào máng dung môi trong khi bão hòa dung môi. Trường hợp bình sắc ký có hình chuông úp thì giấy phải cuộn tròn và cố định bằng móc thủy tinh hoặc khâu bằng chỉ. Đường kính của cuộn giấy phải nhỏ hơn đường kính của đĩa để giấy nhằm tránh giấy chạm vào thành đĩa.

Chấm sắc ký: Kẻ một đường chỉ mảnh song song với mép giấy (đường vạch để chấm sắc ký) theo chiều rộng và cách mép giấy 3 cm đối với sắc ký đi lên để sao cho các vết chấm không bị ngập vào dung môi, 6 cm đối với sắc ký đi xuống để vạch chấm không trùng với đĩa thủy tinh đỡ giấy mà thấp hơn 2 cm khi đặt giấy treo vào máng ở phần trên của bình.

Dùng micropipet chia độ tới 0,001 ml đến 0,002 ml hoặc mao quản có dung tích xác định (2 µl; 5 µl; 10 µl) để chấm các dung dịch chất cần sắc ký thành vết có đường kính không quá 8 mm. Muốn giữ đường kính của vết chấm nhỏ, phải chấm nhanh nhiều lần, đợi giọt trước khô mới chấm tiếp.

Lượng chấm và nồng độ dung dịch chất thử được quy định trong chuyên luận.

Khi chấm nhiều vết trên một dải giấy thì vết chấm nọ phải cách vết chấm kia ít nhất là 30 mm.

Triển khai sắc ký

Phương pháp sắc ký đi lên: Rót dung môi làm pha động vào máng dung môi để được một lớp dung môi cao 2,5 cm, và trong trường hợp pha tĩnh được chỉ định (là phần tách lớp phía dưới khi trộn hỗn hợp dung môi) thì rót pha tĩnh vào khe giữa máng dung môi và thành bình sắc ký. Đậy kín nắp bình, để yên trong 24 giờ ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C và duy trì ở nhiệt độ này trong quá trình tiếp theo. Sau đó treo giấy đã chuẩn bị vào bình, đậy nắp, để yên tiếp 1 giờ 30 phút. Tiếp theo dùng tay vận ở ngoài bình để hạ tờ giấy sắc ký vào máng dung môi sao cho vạch chấm không ngập vào dung môi. Triển khai sắc ký đến một thời gian hoặc một khoảng cách quy định trong chuyên luận. Lấy giấy ra, đánh dấu ngay giới tuyến dung môi và để khô ngoài không khí hoặc làm khô bằng không khí nóng của máy quạt sấy. Phải chú ý tránh ánh sáng trong suốt quá trình triển khai. Làm hiện vết bằng cách phun thuốc thử màu thích hợp, hoặc soi dưới đèn tử ngoại theo quy định của chuyên luận. Tính giá trị R_f và đánh giá kết quả.

Phương pháp sắc ký đi xuống: Cũng tiến hành tương tự như sắc ký đi lên, chỉ khác các điểm sau đây:

Rót dung môi làm pha tĩnh vào đáy bình, tạo một lớp cao khoảng 2 cm; đặt giấy vào máng dung môi ở phần trên bình, dùng một đầu thủy tinh để chèn giấy, gác đầu giấy treo qua đầu thủy tinh để không cho giấy chạm vào mép máng và chạm vào thành bình. Sau thời gian để bão hòa bình và giấy theo quy định như trên, rót pha động vào máng đựng dung môi ở phía trên. Thường sắc ký đi xuống được áp dụng cho các hỗn hợp khó tách và phải chạy sắc ký liên tục nên phải tính kết quả theo R_r .

5.2 PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ KHÍ

Sắc ký khí là một phương pháp tách dựa trên sự phân bố khác nhau của các chất giữa hai pha không trộn lẫn vào nhau, trong đó pha động là chất khí (khí mang) đi qua pha tĩnh chứa trong cột. Sắc ký khí được áp dụng để tách những chất hoặc dẫn xuất của chúng mà có thể hóa hơi ở nhiệt độ phân tích. Phương pháp sắc ký khí dựa trên cơ chế hấp phụ, phân bố hoặc loại theo kích thước (dùng rây phân tử).

Thiết bị

Thiết bị gồm nguồn cung cấp khí, bộ phận tiêm mẫu, cột sắc ký chứa trong buồng ổn nhiệt, hệ thống phát hiện và ghi sắc đồ. Khí mang đi qua cột với tốc độ và áp suất có kiểm soát và đi qua detector. Nhiệt độ của cột hoặc được giữ ở một giá trị không đổi hoặc thay đổi theo một chương trình quy định trong chuyên luận riêng.

Sự đặc thù về thiết kế của máy sắc ký khí có thể yêu cầu phải thay đổi điều kiện sắc ký đã ghi trong chuyên

luận riêng. Trong những trường hợp có thay đổi như thế, phải cho những kết quả tương tự. Nếu cần, điều chỉnh tốc độ dòng khí mang để cải thiện chất lượng sắc ký đồ hoặc để thay đổi thời gian lưu của các pic quan tâm.

Bộ phận tiêm mẫu

Tiêm mẫu trực tiếp: Là kiểu tiêm mẫu thường dùng trừ khi có chỉ dẫn khác. Có thể tiêm mẫu trực tiếp vào đầu cột bằng bơm tiêm (syringe) hoặc dùng van tiêm mẫu hoặc đưa vào buồng hóa hơi có thể có gắn thêm bộ chia dòng.

Tiêm pha hơi: Có thể thực hiện bằng hệ thống tiêm mẫu head-space tĩnh hay động.

Hệ thống tiêm mẫu head-space động (kỹ thuật bão và làm sạch): Bao gồm thiết bị nhúng chìm vào dung dịch cho các chất bay hơi bám vào cột hấp phụ ở nhiệt độ thấp. Các chất lưu giữ được giải hấp phụ vào pha động bằng cách làm nóng nhanh cột hấp phụ.

Hệ thống tiêm mẫu head-space tĩnh: Bao gồm buồng ổn nhiệt mẫu có kiểm soát nhiệt độ trong đó đặt lọ đựng mẫu chứa mẫu rắn hoặc lỏng trong thời gian cố định để cho các thành phần bay hơi đạt được trạng thái cân bằng giữa pha hơi và pha lỏng hoặc rắn. Sau khi đạt được trạng thái cân bằng, một lượng mẫu khí xác định trước được đưa vào máy sắc ký khí.

Pha tĩnh

Pha tĩnh chứa trong cột có thể là:

- Cột mao quản làm bằng silica nung chảy, pha tĩnh phủ trên thành cột.
- Cột nhồi chứa hạt chất mang, trơ tẩm pha tĩnh lỏng.
- Cột nhồi chứa pha tĩnh rắn.

Cột mao quản có đường kính trong từ 0,1 mm đến 0,53 mm và dài từ 5 m đến 60 m. Pha tĩnh là một lớp phim bề dày từ 0,1 µm đến 5,0 µm có thể gắn kết về hóa học vào bề mặt bên trong.

Cột nhồi làm bằng thủy tinh hay kim loại, thông thường dài từ 1 m đến 3 m, đường kính trong từ 2 mm đến 4 mm. Pha tĩnh thường là chất polymer xốp hoặc chất mang rắn phủ pha tĩnh lỏng.

Trong phân tích các hợp chất phân cực ở cột nhồi với pha tĩnh có dung lượng thấp, tính phân cực thấp, chất mang phải trơ để tránh làm cho pic không đối xứng. Hoạt tính chất mang có thể được giảm đi bằng cách silan hóa trước khi phủ pha tĩnh lên. Thường dùng diatomit nung, rửa với acid. Các chất mang thường có các kích thước hạt khác nhau, thường sử dụng nhất các hạt từ 150 µm đến 180 µm và 125 µm đến 150 µm.

Pha động

Thời gian lưu và hiệu lực cột phụ thuộc vào tốc độ dòng khí mang: Thời gian lưu tỉ lệ thuận với chiều dài cột và độ phân giải tỉ lệ thuận với căn bậc hai chiều dài cột. Đối với cột nhồi, lưu lượng khí mang tính

bằng ml/min ở áp suất khí quyển và nhiệt độ phòng. Lưu lượng đo ở đầu ra của detector bằng dụng cụ đo cơ học có chia độ hoặc ống đo tốc độ dòng dùng bột xà phòng ở nhiệt độ cột đang phân tích. Tốc độ dài của dòng khí mang đi qua cột nhờ tỉ lệ nghịch với căn bậc hai đường kính trong của cột ở một thể tích dòng xác định. Lưu lượng 60 ml/min trong cột đường kính trong 4 mm và lưu lượng 15 ml/min trong cột đường kính trong 2 mm cùng cho tốc độ dòng như nhau, do đó thời gian lưu tương đương nhau.

Thường dùng heli và nitơ làm khí mang cho cột nhồi và nitơ, heli và hydro cho cột mao quản.

Detector

Thường dùng detector ion hóa ngọn lửa, ngoài ra còn dùng detector dẫn nhiệt, nitrogen-phospho, cộng kết điện tử, phổ khối, phổ hồng ngoại FTIR và các loại detector khác tùy theo mục đích phân tích.

Các đại lượng đặc trưng cho quá trình sắc ký:
Xem Phụ lục 5. Các kỹ thuật tách sắc ký.

Phương pháp tiến hành

Ổn định cột, buồng tiêm và detector ở nhiệt độ và tốc độ dòng khí mang quy định trong chuyên luận cho đến khi đường nền ổn định.

Chuẩn bị các dung dịch thử và đối chiếu theo quy định của chuyên luận. Các dung dịch phải không được có các tiểu phân rắn. Dùng dung dịch chuẩn để xác định các điều kiện đo phù hợp đặt trên thiết bị và thể tích dung dịch mẫu tiêm cần dùng để tạo ra một đáp ứng phù hợp. Tiến hành các lần tiêm lặp lại để kiểm tra độ lặp lại của đáp ứng và kiểm tra số đĩa lý thuyết, nếu có yêu cầu.

Tiêm các dung dịch thử và ghi lại sắc đồ thu được. Tiến hành tiêm lại nhiều lần để kiểm tra độ lặp lại của đáp ứng. Xác định diện tích pic của các thành phần cần quan tâm khi không có chỉ dẫn khác. Cũng có thể xác định chiều cao của pic tương ứng với các thành phần cần quan tâm khi hệ số đối xứng từ 0,80 đến 1,20. Từ những giá trị thu được tính ra hàm lượng của một thành phần hay nhiều thành phần có trong mẫu đem thử.

Khi dùng một chất làm chuẩn nội, pic của chất này không được che phủ pic của mẫu thử. Nếu có pic bị ảnh hưởng cần phải có sự bổ chính thích hợp. Trong những áp dụng có yêu cầu chương trình nhiệt độ, phải tính kết quả theo diện tích pic.

Trừ những chỉ dẫn khác quy định trong chuyên luận riêng, dùng nitrogen làm khí mang và detector ion hóa ngọn lửa. Thỉnh thoảng cần tiến hành xác định bằng kỹ thuật tiêm on-column, trong đó mẫu được tiêm trực tiếp vào chất nhồi cột không sử dụng bộ phận nạp mẫu gia nhiệt. Khi mẫu thử là chất không bay hơi được tiêm vào cột, nên dùng tiền cột phù hợp, loại có thể thay đổi được.

Thuốc thử

Các thuốc thử và các dung môi sử dụng trong việc chuẩn bị các dung dịch khảo sát cần có chất lượng phù hợp cho phân tích trên sắc ký khí. Có rất nhiều chất hóa học được dùng làm pha tĩnh như các polyethylen glycol, các ester và các amid có phân tử lượng cao, các hydrocarbon, các silicon dạng gom hay dạng lỏng (polysiloxan đã được thế bằng nhóm methyl, phenyl, nitril, vinyl hoặc fluoroalkyl, hoặc hỗn hợp của chúng) và các vi hạt rỗng cấu tạo đa nhân thơm liên kết chéo. Pha tĩnh phù hợp khi nồng độ của nó, bản chất và bậc của chất mang rắn theo đúng quy định của chuyên luận riêng. Cột phải luyện theo chỉ dẫn của nhà sản xuất. Trong đa số các trường hợp, tên thương mại của cột ghi trong chuyên luận là phù hợp cho mục đích phân tích nhưng có thể dùng cột có tên thương mại khác tương đương.

Chuẩn nội

Các thuốc thử được dùng làm chuẩn nội không được chứa bất kỳ tạp chất nào gây ra các pic có ảnh hưởng tới việc xác định các thành phần của mẫu thử đã mô tả trong chuyên luận riêng.

Chuẩn hóa

Trong một số trường hợp, cần tiến hành xác định bằng phương pháp quy về 100 % để đánh giá một hoặc nhiều thành phần hoặc các tạp chất liên quan. Trong những trường hợp này, tổng diện tích của một pic hay các pic của các thành phần hoặc các tạp chất liên quan được biểu thị dưới dạng tỷ lệ phần trăm so với tổng diện tích của tất cả các pic thu được từ mẫu đem thử. Trong quá trình xác định, cần sử dụng bộ khuếch đại để mở rộng thang đo và bộ tính tích phân tự động.

Thể tích tiêm

Khi thể tích tiêm không qui định trong chuyên luận riêng, nên chọn một thể tích phù hợp để áp dụng. Chọn thể tích tiêm phụ thuộc vào đáp ứng của phép phân tích, detector sử dụng, hiệu lực cột và toàn bộ hiệu năng của hệ thống sắc ký. Khi không có chỉ dẫn, thường dùng thể tích tiêm là 1 µl, tuy nhiên cần kiểm tra sự thích hợp trong điều kiện cụ thể.

Pic phụ (pic thứ cấp)

Có thể cần chất đối chiếu để xác định pic phụ. Pic phụ là một pic có trên sắc đồ nhưng không phải là pic chính hay pic chuẩn nội hoặc pic của dung môi và các thuốc thử tạo dẫn xuất.

Sắc ký khí head-space

Sắc ký khí head-space là phương pháp đặc biệt thích hợp để tách và xác định các chất bay hơi hiện diện trong mẫu rắn hay lỏng. Phương pháp dựa trên sự phân tích pha hơi sau khi đạt được trạng thái cân bằng với pha rắn hoặc pha lỏng.

Thiết bị

Máy sắc ký khí kết nối với bộ phận nạp mẫu tự động có thiết bị kiểm soát nhiệt độ và áp suất. Trong trường hợp cần thiết, có thể gắn thêm bộ phận đuổi dung môi. Đưa mẫu vào lọ đựng mẫu có nắp đậy gắn với hệ thống van có thể cho phép khí mang đi qua. Đặt lọ đựng mẫu trong buồng ổn nhiệt ở nhiệt độ tùy theo bản chất của mẫu và duy trì nhiệt độ này trong thời gian sao cho đạt được trạng thái cân bằng giữa pha rắn hoặc lỏng và pha hơi.

Đưa khí mang vào lọ đựng mẫu và sau thời gian quy định, mở van tương ứng để khí khuếch tán vào cột sắc ký mang theo các chất bay hơi cần phân tích.

Nếu không có bộ phận nạp mẫu tự động, có thể dùng bơm tiêm (syringe) mẫu khí đưa mẫu trực tiếp vào cột sau khi đạt được trạng thái cân bằng trong buồng ổn nhiệt đặt riêng. Cần lưu ý tránh những yếu tố làm thay đổi trạng thái cân bằng.

Phương pháp tiến hành

Dùng các dung dịch đối chiếu để xác định tính thích hợp của cài đặt thiết bị để cho đáp ứng đạt yêu cầu.

Định lượng trực tiếp

Lần lượt cho mẫu thử và mẫu đối chiếu vào các lọ đựng mẫu đồng nhất như quy định trong chuyên luận riêng, tránh tiếp xúc giữa mẫu thử và thiết bị lấy mẫu. Đậy kín lọ và đặt trong buồng ổn nhiệt đã cài nhiệt độ và áp suất như trong chuyên luận riêng. Sau khi đạt được trạng thái cân bằng, tiến hành sắc ký theo điều kiện quy định trong chuyên luận riêng.

Phương pháp thêm chuẩn

Lần lượt cho cùng một thể tích mẫu thử vào các lọ đựng mẫu đồng nhất. Thêm vào mỗi lọ một lượng thích hợp dung dịch đối chiếu của chất cần xác định có hàm lượng đã biết trước để có một dãy dung dịch có nồng độ tăng dần một cách đều đặn.

Đậy kín lọ và đặt trong buồng ổn nhiệt đã đặt nhiệt độ và áp suất như trong chuyên luận riêng. Sau khi đạt được trạng thái cân bằng, tiến hành sắc ký theo điều kiện quy định trong chuyên luận riêng.

Lập phương trình tuyến tính của đồ thị bằng phương pháp bình phương tối thiểu và tìm được từ đó nồng độ của chất cần xác định trong dung dịch. Theo một cách khác, vẽ đồ thị trung bình các nồng độ xác định được theo lượng dung dịch đối chiếu thêm vào. Kéo dài đường nối các điểm trên đồ thị cho đến khi gặp trục nồng độ. Khoảng cách giữa điểm này và giao điểm của các trục thể hiện nồng độ chất cần xác định trong dung dịch.

Phương pháp rút ra liên tục

Nếu được quy định, phương pháp rút ra liên tục được mô tả đầy đủ trong chuyên luận riêng.

5.3 PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG

Sắc ký lỏng là phương pháp tách sắc ký các chất dựa trên sự phân bố khác nhau của chúng giữa hai pha không trộn lẫn, trong đó pha động là một chất lỏng chảy qua pha tĩnh chứa trong cột.

Sắc ký lỏng được tiến hành chủ yếu dựa trên cơ chế hấp phụ, phân bố khối lượng, trao đổi ion, loại trừ theo kích thước hoặc tương tác hóa học lập thể.

Thiết bị

Thiết bị bao gồm một hệ thống bơm, bộ phận tiêm mẫu, cột sắc ký (bộ phận điều khiển nhiệt độ có thể được sử dụng nếu cần thiết), detector và một hệ thống thu dữ liệu (hay một máy tích phân hoặc một máy ghi đồ thị). Pha động được cung cấp từ một hoặc vài bình chứa và chảy qua cột, thông thường với tốc độ không đổi và sau đó chảy qua detector.

Hệ thống bơm

Hệ thống bơm trong sắc ký lỏng phải giữ cho pha động luôn chảy với một lưu lượng không đổi. Những biến đổi áp suất sẽ được giảm thiểu, ví dụ cho dung môi chảy qua một thiết bị giảm xung. Ống dẫn và hệ thống nối phải là loại chịu được áp suất sinh ra do hệ thống bơm. Các bơm có thể được lắp với thiết bị loại bỏ bọt khí.

Hệ thống điều khiển bằng bộ vi xử lý có khả năng cung cấp pha động hoặc hằng định (rửa giải đẳng dòng) hoặc thay đổi tỷ lệ thành phần (rửa giải gradient) theo một chương trình xác định. Trong trường hợp rửa giải gradient, hệ thống bơm lấy các dung môi từ một vài bình chứa và các dung môi có thể được trộn lẫn ở áp suất thấp hoặc áp suất cao.

Bộ phận tiêm mẫu

Dung dịch mẫu thử được đưa vào dòng pha động hoặc vào vị trí gần đầu hoặc đầu cột nhờ một bộ phận tiêm mẫu có khả năng hoạt động ở áp suất cao. Có thể dùng vòng chứa mẫu thử, có thể tích cố định hoặc thiết bị có thể tích thay đổi, có thể vận hành bằng tay hoặc tự động. Khi tiêm mẫu bằng tay có thể gây ra sai số do thể tích tiêm vào vòng chứa mẫu không đủ.

Pha tĩnh

Có nhiều loại pha tĩnh có thể được sử dụng trong sắc ký lỏng, bao gồm:

- Silica (silic dioxyd), nhôm oxyd hoặc than graphit xốp thường được dùng trong sắc ký pha thuận mà quá trình phân tách dựa trên sự khác nhau về khả năng hấp phụ hoặc (và) phân bố khối lượng;
- Nhựa hoặc polymer có chứa các nhóm chức acid hoặc base, sử dụng trong sắc ký trao đổi ion mà trong đó sự chia tách được thực hiện dựa trên sự cạnh tranh giữa các ion cần tách và các ion trong pha động;

- Silica xốp hoặc polymer, sử dụng trong sắc ký rây phân tử, ở đó sự chia tách dựa trên sự khác nhau về kích thước phân tử, tương ứng với sự loại trừ không gian;
- Rất nhiều chất mang biến đổi hóa học được chế tạo từ polymer, silica gel hoặc than graphit xốp được dùng trong sắc ký lỏng pha đảo mà ở đó sự chia tách về nguyên tắc cơ bản dựa trên sự phân bố phân tử các chất giữa pha động và pha tĩnh;
- Pha tĩnh loại biến đổi hóa học đặc biệt, ví dụ dẫn xuất của cellulose hoặc amylose, protein hoặc peptid, cyclodextrin v.v... dùng để tách các đồng phân đối quang (sắc ký đối quang).

Phần lớn sự chia tách dựa trên cơ chế phân bố, sử dụng silica biến đổi hóa học làm pha tĩnh và các dung môi phân cực làm pha động. Bề mặt của chất mang, ví dụ như các nhóm silanol của silica được phản ứng với các thuốc thử silan khác nhau tạo thành các dẫn xuất silyl có liên kết cộng hóa trị, che phủ một số lượng khác nhau các vị trí hoạt động trên bề mặt chất mang. Bản chất của các pha liên kết là tham số quan trọng để xác định các tính chất tách của hệ sắc ký.

Các pha liên kết dùng phổ biến là:

Octyl	= Si-(CH ₂) ₇ -CH ₃	C ₈
Octadecyl	= Si-(CH ₂) ₁₇ -CH ₃	C ₁₈
Phenyl	= Si-(CH ₂) _n -(C ₆ H ₅)	C ₆ H ₅
Cyanopropyl	= Si-(CH ₂) ₃ -CN	CN
Aminopropyl	= Si-(CH ₂) ₃ -NH ₂	NH ₂
Diol	= Si-(CH ₂) ₃ -OCH(OH)-CH ₂ -OH	

Trừ khi có tiêu chuẩn riêng của nhà sản xuất, thông thường các cột sắc ký pha đảo dựa trên silica được coi là ổn định đối với pha động có pH từ 2,0 tới 8,0. Cột chứa than graphit xốp hoặc các hạt vật liệu polymer như styren - divinylbenzen copolymer ổn định ở một khoảng pH rộng hơn.

Phân tích sử dụng sắc ký pha thuận với pha tĩnh là silica không bị biến đổi, than graphit xốp hoặc silica biến đổi hóa học làm cho phân cực (ví dụ cyanopropyl hoặc diol) và pha động không phân cực được sử dụng trong một số trường hợp.

Đối với sự tách nhằm mục đích phân tích, kích thước hạt của pha tĩnh phổ biến nhất từ 3 µm đến 10 µm. Các hạt có thể hình cầu hoặc không có hình dạng nhất định, có độ xốp khác nhau và diện tích bề mặt đặc hiệu. Những tham số này cấu thành biểu hiện sắc ký của từng pha tĩnh cụ thể. Trong trường hợp pha đảo, các yếu tố bổ sung như bản chất của pha tĩnh, mức độ liên kết, ví dụ như độ dài mạch carbon liên kết, hoặc các nhóm hoạt động bề mặt của pha tĩnh có được che phủ hết hay không. Sự kéo đuôi pic, đặc biệt của các chất base, có thể xảy ra khi có mặt các nhóm silanol bề mặt của silica.

Cột được làm bằng thép không gỉ trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, có chiều dài và đường kính trong (φ) khác nhau được sử dụng cho phân tích

sắc ký. Cột với đường kính trong nhỏ hơn 2 mm thường được coi là vi cột. Nhiệt độ của pha động và cột phải được giữ ổn định trong suốt thời gian phân tích. Phần lớn quá trình tách được thực hiện ở nhiệt độ phòng, nhưng cột có thể được làm nóng nhằm thu được hiệu quả cao hơn. Tuy nhiên, nhiệt độ cột cũng không được phép vượt quá 60 °C vì khả năng phân hủy của pha tĩnh hoặc sự thay đổi thành phần của pha động có thể xảy ra.

Pha động

Đối với sắc ký pha thuận, thường sử dụng dung môi ít phân cực. Sự có mặt của nước trong pha động phải được hạn chế và kiểm tra chặt chẽ nhằm thu được kết quả tái lập lại. Đối với sắc ký lỏng pha đảo, sử dụng pha động chứa nước, có hoặc không có dung môi hữu cơ.

Các thành phần của pha động thường được lọc nhằm loại bỏ các tiểu phân lớn hơn 0,45 µm. Pha động chứa nhiều thành phần được chuẩn bị bằng cách đóng các thể tích qui định (trừ khi có chỉ định về khối lượng) của các thành phần riêng lẻ rồi sau đó trộn lẫn với nhau. Ngoài ra, dung môi cũng có thể được cấp qua các bơm riêng lẻ, điều khiển bằng các van chia tỷ lệ, để có thể trộn lẫn theo các tỷ lệ mong muốn. Dung môi thường được loại khí trước khi bơm bằng cách sục khí heli, lắc siêu âm hoặc sử dụng hệ thống lọc màng lọc/chân không trực tuyến nhằm tránh sự tạo bọt khí trong cốc đo của detector.

Dung môi dùng để chuẩn bị pha động thường không được chứa các chất làm ổn định và phải trong suốt (không hấp thụ quang) ở vùng bước sóng phát hiện, nếu như sử dụng detector từ ngoại. Dung môi và những thành phần khác được dùng phải có chất lượng phù hợp. Khi cần điều chỉnh pH chỉ thực hiện với thành phần nước của pha động mà không điều chỉnh với hỗn hợp. Nếu sử dụng dung dịch đệm, cần phải rửa hệ thống bằng hỗn hợp nước và dung môi hữu cơ (5 % tt/tt) nhằm ngăn chặn sự kết tinh muối sau khi kết thúc quá trình sắc ký.

Pha động có thể chứa những thành phần khác, ví dụ một ion trái dấu trong sắc ký tạo cặp ion hoặc một chất chọn lọc đối quang trong trường hợp sắc ký sử dụng pha tĩnh không chọn lọc đối quang.

Detector

Detector hấp thụ từ ngoại/khả kiến gồm cả detector chuỗi diod là được sử dụng phổ biến nhất. Detector huỳnh quang, detector khúc xạ vi sai, detector điện hóa, detector khối phổ, detector tán xạ ánh sáng bay hơi, detector phóng xạ hoặc các loại detector đặc biệt khác cũng có thể được sử dụng.

Các đại lượng đặc trưng cho quá trình sắc ký

Xem phần chung Phụ lục 5. Các kỹ thuật tách sắc ký.

Phương pháp tiến hành

Làm cân bằng cột với pha động và tốc độ dòng theo qui định, ở nhiệt độ phòng hoặc nhiệt độ qui định trong chuyên luận riêng, cho đến khi đường nền ổn định. Chuẩn bị các dung dịch chuẩn và dung dịch thử theo yêu cầu. Các dung dịch phải không được có các tiểu phân rắn.

Hiệu năng

Qui định về sự phù hợp của hệ thống được mô tả trong Phụ lục 5. Các kỹ thuật tách sắc ký. Xác định và điều chỉnh các thông số của hệ thống sắc ký có thể được thực hiện nhằm đáp ứng các yêu cầu về sự phù hợp của hệ thống cũng được trình bày trong Phụ lục này.

Thành phần và tốc độ dòng của pha động được qui định trong chuyên luận riêng. Pha động là hỗn hợp dung môi được đuổi khí bằng bơm chân không hoặc bằng một thiết bị đuổi khí khác phù hợp nhưng không ảnh hưởng đến thành phần của hỗn hợp.

Trong quá trình định lượng, khi trong chuyên luận riêng không qui định dùng chuẩn nội, nên sử dụng bộ phận tiêm mẫu có thể tích cố định. Trong một số trường hợp ngoại lệ, khi trong chuyên luận chỉ dẫn tính theo chiều cao pic thì không cần quan tâm đến hệ số đối xứng.

Cột sắc ký thường được làm bằng thép không gỉ có kích thước (chiều dài × đường kính trong) được qui định trong chuyên luận riêng. Trong chuyên luận riêng, khi pha tĩnh được ký hiệu bằng một chữ cái thì tra cứu ở phần Nguyên vật liệu nêu ở dưới đây. Đường kính danh nghĩa của hạt pha tĩnh được đề trong ngoặc đơn ngay sau ký hiệu chữ cái cụ thể. Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, quá trình sắc ký được tiến hành ở điều kiện nhiệt độ không đổi trong môi trường phòng thí nghiệm. Khi sử dụng các pha động có pH cao với cột có bản chất là silica nên sử dụng một tiền cột ở trước cột phân tích.

Trừ khi có các chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, hệ thống detector gồm một detector đo quang gắn với một cốc đo có thể tích nhỏ (khoảng 10 µl là phù hợp). Phải đặt bước sóng theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Khi dùng một máy sắc ký có thiết kế riêng biệt có thể phải thay đổi các điều kiện sắc ký đã ghi trong chuyên luận riêng. Trong trường hợp này, người phân tích cần đảm bảo rằng những thay đổi đó cho kết quả tương đương.

Thể tích tiêm

Khi thể tích tiêm không qui định trong chuyên luận riêng, nên chọn một thể tích tiêm phù hợp để áp dụng. Chọn thể tích tiêm phụ thuộc vào đáp ứng của phép phân tích, detector sử dụng, hiệu lực cột và toàn bộ hiệu năng của hệ thống sắc ký. Khi không có chỉ dẫn,

thường dùng thể tích tiêm là 20 µl, tuy nhiên cần kiểm tra sự thích hợp trong điều kiện cụ thể.

Pic phụ (Pic thứ cấp)

Có thể cần chất đối chiếu để xác định pic phụ. Pic phụ là một pic có trên sắc ký đồ nhưng không phải là pic chính hay pic của chuẩn nội hoặc pic của dung môi hay của các thuốc thử tạo dẫn xuất.

Nguyên vật liệu

Các dung môi và thuốc thử dùng để pha các dung dịch sử dụng trong phân tích phải có chất lượng thích hợp cho sắc ký lỏng.

Khi chuyên luận riêng quy định pha tĩnh được gắn với một chữ cái (A hoặc B hoặc C) là muốn nói tới các pha tĩnh như mô tả dưới đây:

Pha tĩnh A, hạt silica;

Pha tĩnh B, hạt silica được biến đổi hóa học, gắn với nhóm octylsilyl (C₈);

Pha tĩnh C, hạt silica được biến đổi hóa học, gắn với nhóm octadecylsilyl (C₁₈).

5.4 PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỚP MỎNG

Phương pháp sắc ký lớp mỏng được dùng để định tính, thử tinh khiết và đôi khi để bán định lượng hoặc định lượng hoạt chất thuốc.

Sắc ký lớp mỏng là một kỹ thuật tách các chất được tiến hành khi cho pha động di chuyển qua pha tĩnh trên đó đã chấm hỗn hợp các chất cần tách. Pha tĩnh là chất hấp phụ được chọn phù hợp theo từng yêu cầu phân tích, được trải thành lớp mỏng đồng nhất và được cố định trên các phiến kính hoặc phiến kim loại. Pha động là một hệ dung môi đơn hoặc đa thành phần được trộn với nhau theo tỷ lệ quy định trong từng chuyên luận. Trong quá trình di chuyển qua lớp hấp phụ, các cấu tử trong hỗn hợp mẫu thử được di chuyển trên lớp mỏng, theo hướng pha động, với những tốc độ khác nhau. Kết quả thu được là một sắc ký đồ trên lớp mỏng. Cơ chế của sự tách có thể là cơ chế hấp phụ, phân bố, trao đổi ion, sàng lọc phân tử hay sự phối hợp đồng thời của nhiều cơ chế tùy thuộc vào tính chất của chất làm pha tĩnh và dung môi làm pha động.

Đại lượng đặc trưng cho mức độ di chuyển của chất phân tích là hệ số di chuyển R_f được tính bằng tỷ lệ giữa khoảng dịch chuyển của chất thử và khoảng dịch chuyển của dung môi:

$$R_f = \frac{a}{b}$$

Trong đó:

a là khoảng cách di chuyển của chất phân tích;

b là khoảng cách di chuyển của dung môi tính từ điểm chấm mẫu.

R_f: Chỉ có giá trị từ 0 đến 1.

Ngoài ra, khi sắc ký liên tục không xác định được tuyến dung môi, vị trí vết chất thử trên sắc đồ có thể xác định bằng hệ số dịch chuyển tương đối R_r . Hệ số dịch chuyển tương đối R_r được xác định bằng tỷ số giữa khoảng cách dịch chuyển của vết chất thử và khoảng cách dịch chuyển của vết chất chuẩn đối chiếu được sắc ký trong cùng điều kiện và trên cùng bản mỏng với mẫu thử:

$$R_r = \frac{a}{c}$$

Trong đó:

a là khoảng cách từ điểm xuất phát đến tâm của vết mẫu thử;

c là khoảng cách từ điểm xuất phát đến tâm của vết chất chuẩn.

Giá trị R_r có thể lớn hay nhỏ hơn 1.

Cách tiến hành

Dụng cụ

Bình triển khai, thường bằng thủy tinh trong suốt có kích thước phù hợp với các phiến kính cần dùng và có nắp đậy kín.

Đèn tử ngoại, phát các bức xạ có bước sóng ngắn 254 nm và bước sóng dài 365 nm.

Dụng cụ để phun thuốc thử.

Tủ sấy điều nhiệt để hoạt hóa và sấy bản mỏng và sắc ký đồ, hoặc để sấy nóng đối với một số phản ứng phát hiện.

Tủ hút hơi độc.

Máy sấy dùng để sấy khô sắc ký đồ và cho phép chạm nhanh nhiều lần những dung dịch pha loãng chất cần phân tích.

Một máy ảnh tốt có thể chụp lưu giữ sắc ký đồ ở ánh sáng ban ngày với khoảng cách 30 cm đến 50 cm.

Tủ lạnh để bảo quản những thuốc thử dễ hỏng.

Micropipet nhiều cỡ từ 1 μ l, 2 μ l, 5 μ l, 10 μ l đến 20 μ l, các ống mao quản hoặc dụng cụ thích hợp.

Bản mỏng tráng sẵn chất hấp phụ có chất phát quang thích hợp.

Trường hợp phòng thí nghiệm không có điều kiện trang bị các loại bản mỏng tráng sẵn thì tự chuẩn bị lấy bản mỏng với các dụng cụ sau đây:

Các tấm kính phẳng có kích thước phù hợp đã được xử lý trước bằng hóa chất rồi rửa sạch bằng nước và sấy khô.

Thiết bị trải chất hấp phụ lên tấm kính thành một lớp mỏng đồng đều, có chiều dày thích hợp.

Giá để xếp các tấm kính đã trải.

Chuẩn bị bản mỏng

Sắp xếp các bản mỏng và chuẩn bị thiết bị: Các phiến kính phải được lau chùi cẩn thận và tẩy sạch hoàn toàn các chất béo bằng cách ngâm trong dung dịch sulfocromic. Sau đó, rửa dưới tia nước máy rồi tráng nước cất và làm khô trên giá ở nhiệt độ thường hay trong tủ sấy. Đặt lên khung trải 5 phiến kính 20 cm ×

20 cm (hay phiến kính 10 cm × 20 cm) dày bằng nhau. Điều chỉnh độ dày của lớp hấp phụ bằng các thông số trên thiết bị trải.

Điều chế vữa của chất hấp phụ: Chất hấp phụ được chọn lọc sao cho phù hợp với yêu cầu phân tích như: Silica gel G, kieselguhr, cellulose, nhôm oxyd, trong số đó silica gel G được dùng thông dụng nhất. Trộn 25 g silica gel G với 50 ml nước cất và nhào trong cối hoặc lắc mạnh trong bình nón có dung tích 200 ml đến 250 ml, nút kín, trong 30 giây đến 45 giây. Dịch treo tạo được ở dạng lỏng và đồng nhất. Rót ngay vào thiết bị trải đã điều chỉnh độ dày cho bản mỏng khoảng 0,25 mm (nếu không có chỉ dẫn trong chuyên luận riêng). Sau khi rót dịch treo vào thiết bị trải, lật tay tròn 180° về phía trái và chờ cho đến khi dịch treo chảy ra thì bắt đầu trải. Khi đã trải đến phiến cuối cùng lật tay tròn về phía phải để giữ cho dịch treo không chảy xuống.

Để nguyên các phiến kính tại chỗ khoảng 10 phút tới khi mặt trên hết bóng, hoặc để khô tự nhiên tại nhiệt độ phòng.

Hoạt hóa: Cho các bản mỏng đã khô mặt vào tủ sấy và sấy ở 105 °C đến 110 °C trong 30 phút (nếu không có chỉ dẫn ở chuyên luận riêng). Để nguội rồi bảo quản trong bình hút ẩm. Khi dùng, nếu cần thì hoạt hóa lại bằng cách sấy ở 105 °C đến 110 °C trong 1 giờ rồi cạo bỏ một dải chất hấp phụ dọc hai bên cạnh của tấm kính.

Chuẩn bị bình khai triển: Các bình khai triển thường là bình thủy tinh, hình hộp hay hình trụ, có nắp đậy kín, kích thước thay đổi tùy theo yêu cầu của các bản mỏng sử dụng. Bão hòa hơi dung môi vào khí quyển trong bình bằng cách lót giấy lọc xung quanh thành trong của bình, rồi rót một lượng vừa đủ dung môi vào bình, lắc rồi để giấy lọc thấm đều dung môi. Lượng dung môi sử dụng sao cho sau khi thấm đều giấy lọc còn lại một lớp dày khoảng 5 mm đến 10 mm ở đáy bình. Đậy kín nắp bình và để yên 1 giờ ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C. Muốn thu được những kết quả lặp lại, ta chỉ nên dùng những dung môi thật tinh khiết, loại dùng cho sắc ký. Những dung môi dễ bị biến đổi về hóa học chỉ nên pha trước khi dùng. Nếu sử dụng những hệ pha động phức tạp phải chú ý đến những thành phần dễ bay hơi làm thay đổi thành phần của hệ pha động dẫn đến hiện tượng không lặp lại của trị số R_f .

Chấm chất phân tích lên bản mỏng: Lượng chất hoặc hỗn hợp chất đưa lên bản mỏng có ý nghĩa quan trọng đối với hiệu quả tách sắc ký, đặc biệt ảnh hưởng rất lớn đến trị số R_f . Lượng chất quá lớn làm cho vết sắc ký lớn và kéo dài, khi đó, vết của các chất có trị số R_f gần nhau sẽ bị chồng lấp. Lượng chất nhỏ quá có thể không phát hiện được do độ nhạy của thuốc thử không đủ (thông thường độ nhạy của các thuốc thử trên 0,005 μ g). Lượng mẫu thông thường cần đưa lên bản mỏng là 0,1 μ g đến 50 μ g ở dạng dung dịch trong

dung môi thích hợp. Thể tích dung dịch từ 0,001 ml đến 0,005 ml đối với trường hợp đưa mẫu lên bản mỏng dưới dạng điểm và từ 0,1 ml đến 0,2 ml khi đưa mẫu lên bản mỏng dưới dạng vạch như trong trường hợp sắc ký điều chế. Đối với các dung dịch có nồng độ rất loãng thì có thể làm giàu trực tiếp trên bản mỏng bằng cách chấm nhiều lần ở cùng một vị trí và sấy khô sau mỗi lần chấm.

Đường xuất phát phải cách mép dưới của bản mỏng 1,5 cm đến 2 cm và cách bề mặt dung môi từ 0,8 cm đến 1 cm. Các vết chấm phải nhỏ, có đường kính 2 mm đến 6 mm và cách nhau 15 mm. Các vết ở bìa phải cách bờ bên của bản mỏng ít nhất 1 cm để tránh hiệu ứng bờ. Khi làm sắc ký lớp mỏng bán định lượng, độ chính xác của kết quả phân tích phụ thuộc rất nhiều vào độ chính xác của lượng chất thử đưa lên bản mỏng, tức là thể tích dung dịch chấm lên bản mỏng. Do đó, với những trường hợp phân tích bán định lượng phải dùng các mao quản định mức chính xác. Khi không cần định lượng dùng micropipet hoặc ống mao quản thường.

Triển khai sắc ký: Đặt bản mỏng vào bình triển khai. Chú ý lượng dung môi dùng sao cho để các vết chấm phải ở trên bề mặt của lớp dung môi. Đậy kín bình và để triển khai ở nhiệt độ từ 20 °C đến 25 °C và tránh ánh sáng mặt trời. Khi dung môi đã triển khai trên bản mỏng được một đoạn theo quy định trong chuyên luận, lấy bản mỏng ra khỏi bình, đánh dấu mức dung môi, làm bay hơi dung môi còn đọng lại trên bản mỏng rồi hiện vết theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng. Quan sát các vết xuất hiện, tính giá trị R_f hoặc R_r và tiến hành định tính, phát hiện tạp chất hoặc định lượng như quy định trong chuyên luận riêng.

Chú ý:

Khi phân tích bằng sắc ký lớp mỏng luôn phải chấm chất đối chiếu bên cạnh vết chất thử với lượng tương tự như dự đoán có trong vết chất thử để so sánh kết quả về màu sắc, kích thước và giá trị R_f hoặc R_r trong cùng điều kiện.

Hiệu năng của bản mỏng được kiểm tra như sau: Chấm một thể tích thích hợp (10 μ l) cho lớp mỏng thông thường và 1 μ l đến 2 μ l cho loại bản mỏng có kích thước hạt mịn dung dịch thử hiệu năng lớp mỏng gồm lục bromocresol, da cam methyl, đỏ methyl và sudan G đỏ (thuốc thử). Tiến hành sắc ký với hệ dung môi *methanol - toluen* (20 : 80). Kết quả trên sắc ký đồ phải có 04 vết tách rõ ràng có R_f như sau: Lục bromocresol: < 0,15; da cam methyl: 0,1 đến 0,25, đỏ methyl: 0,35 đến 0,55 và sudan G đỏ: 0,75 đến 0,98.

5.5 PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ RẦY PHÂN TỬ

Sắc ký rây phân tử là phương pháp chia tách các phân tử trong dung dịch dựa trên kích thước của chúng. Trong trường hợp pha động là một dung môi hữu cơ,

kỹ thuật được gọi là sắc ký thấm qua gel, còn trường hợp pha động là nước thì kỹ thuật được gọi là sắc ký lọc trên gel. Mẫu được đưa vào cột chứa đầy gel hoặc một loại vật liệu xốp, và được pha động dẫn chạy qua cột. Sự chia tách theo kích thước được thực hiện nhờ sự trao đổi lặp đi lặp lại các phân tử chất tan giữa dung môi pha động và cùng dung môi đó được pha tĩnh giữ ở trong các lỗ xốp của gel. Khoảng kích thước lỗ của vật liệu nhồi trong cột sẽ xác định khoảng kích thước phân tử được chia tách qua quá trình sắc ký.

Những phân tử có kích thước đủ nhỏ để có thể đi vào trong tất cả khoảng không gian của lỗ xốp được rửa giải trong thể tích thấm tổng V_t . Các phân tử có kích thước lớn hơn kích thước lỗ xốp lớn nhất chỉ di chuyển được dọc theo cột qua các khoảng trống giữa các hạt vật liệu nhồi mà không bị giữ lại, được rửa giải trong thể tích loại trừ V_o (thể tích trống). Sự chia tách theo kích thước phân tử xảy ra giữa thể tích trống và tổng thể tích thấm, chia tách hiệu quả thường được thực hiện ở hai phần ba đầu tiên của khoảng này.

Thiết bị

Thiết bị bao gồm một cột sắc ký có kích thước phù hợp, nếu cần thiết phải khống chế nhiệt độ, được nhồi đầy vật liệu chia tách có thể phân loại theo các khoảng kích thước phân tử phù hợp. Kích thước của cột (chiều cao $\times$ đường kính trong) được quy định ở chuyên luận riêng. Pha động chạy qua cột ở tốc độ không đổi dưới tác dụng của trọng lực hoặc nhờ một bơm. Một đầu của cột được nối với một thiết bị phù hợp để cấp mẫu theo kiểu bộ phận điều chỉnh lưu lượng dòng, một bơm tiêm đi qua vách hoặc một van tiêm và có thể được nối với một bơm điều khiển lưu lượng dòng dung dịch rửa giải. Một cách khác là mẫu có thể được tiêm vào trực tiếp trên bề mặt lớp gel hoặc dưới dung dịch rửa giải nếu như mẫu có tỷ trọng lớn hơn dung dịch rửa giải.

Đường ra của cột được nối với một detector có gắn với một máy ghi tự động để theo dõi nồng độ tương đối của các thành phần trong mẫu. Detector thường được thiết kế dựa trên các tính chất hấp thụ quang, khúc xạ ánh sáng hay phát quang. Bộ phận thu hứng phân đoạn tự động có thể được lắp trong trường hợp cần thiết. Vật liệu trong cột có thể là một chất mang mềm như gel nở hay một chất mang cứng cấu tạo từ thủy tinh, silic hoặc một hợp chất cao phân tử liên kết chéo tương thích dung môi. Chất mang cứng thường đòi hỏi hệ thống điều áp để tăng tốc độ phân tách. Pha động thường được chọn theo loại mẫu, môi trường phân tách và phương pháp phát hiện.

Vật liệu nhồi cần được xử lý và được nạp vào cột như mô tả trong chuyên luận hoặc theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Hiệu năng

Hệ thống sắc ký phải thỏa mãn qui định về sự phù hợp được mô tả trong phần Các kỹ thuật tách sắc ký (Phụ lục 5). Việc điều chỉnh các thông số của hệ sắc ký có thể được thực hiện nhằm đáp ứng các yêu cầu về sự phù hợp của hệ thống cũng được trình bày trong phụ lục này.

Xác định tỷ lệ thành phần tương đối

Tiến hành phương pháp theo các điều kiện ghi trong chuyên luận riêng. Nếu có thể, theo dõi quá trình rửa giải một cách liên tục và ghi lại diện tích của các pic tương ứng. Nếu mẫu được xác định dựa vào tính chất hóa lý mà tất cả các thành phần của mẫu đều cho một đáp ứng tương đương (ví dụ cùng có một hệ số hấp thụ riêng), thì lượng tương đối của mỗi thành phần có thể được xác định bằng cách tính tỷ lệ diện tích mỗi pic thu được trên tổng diện tích pic của những thành phần quan tâm. Nếu sự đáp ứng khác nhau, tính tỷ lệ thành phần tương đối bằng cách dựa vào đường chuẩn của các dung dịch chuẩn được ghi trong chuyên luận riêng hoặc bằng phương pháp khác được ghi trong chuyên luận riêng.

Xác định khối lượng phân tử

Thực hiện phương pháp với dung dịch thử và các dung dịch chuẩn theo quy trình ghi trong chuyên luận riêng. Xây dựng một đồ thị biểu thị sự phụ thuộc giữa thể tích lưu của các chất chuẩn dùng cho hiệu chuẩn và hàm logarit của khối lượng phân tử của chúng. Đường chuẩn thường xấp xỉ với một đường thẳng nằm giữa giới hạn loại trừ và giới hạn thẩm thấu thể. Khối lượng phân tử của thành phần quan tâm có thể được ước lượng từ đường chuẩn. Việc xây dựng đường chuẩn chỉ có giá trị đối với một hệ cụ thể trong những điều kiện thí nghiệm xác định.

Sự phân bố polymer theo kích thước phân tử

Sắc ký rây phân tử có thể được sử dụng để xác định sự phân bố các polymer theo kích thước phân tử. Tuy nhiên, việc so sánh mẫu sẽ chỉ có ý nghĩa nếu kết quả thu được là cùng một điều kiện thí nghiệm. Nguyên liệu sử dụng để xây dựng đường chuẩn và phương pháp xác định sự phân bố dựa theo kích thước phân tử của các polymer được ghi trong chuyên luận riêng.

Phân bố khối lượng phân tử trong dextran

Kiểm tra bằng phương pháp sắc ký rây phân tử.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,200 g mẫu thử vào pha động và pha loãng tới 10 ml bằng pha động.

Dung dịch đánh dấu: Hòa tan 5 mg dextrose chuẩn và 2 mg chất đối chiếu hóa học dextran V_o trong 1 ml pha động.

Dung dịch hiệu chuẩn: Hòa tan riêng rẽ 15 mg các chất đối chiếu hóa học dextran 4, dextran 10 dùng cho hiệu chuẩn và 20 mg các chất đối chiếu hóa học dextran 40, dextran 70, dextran 250 dùng cho hiệu chuẩn trong 1 ml pha động.

Dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:

Hòa tan 20 mg chất đối chiếu dextran 40 dùng cho chuẩn hiệu năng (đối với dextran 40) hoặc 20 mg dextran 60/70 dùng cho chuẩn hiệu năng (đối với dextran 60 và dextran 70) vào 1 ml pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột (0,3 m × 10 mm) nhồi agarose loại liên kết chéo dùng trong sắc ký hoặc một dây các cột (0,3 m × 10 mm) nhồi gel polyether hydroxyl hóa dùng trong sắc ký.

Pha động: Dung dịch chứa 7 g natri sulfat khan và 1 g clorobutanol trong 1 lít nước.

Tốc độ dòng: 0,5 ml/min đến 1 ml/min, giữ ổn định với sai số ± 1 %/giờ.

Detector khúc xạ ánh sáng vi sai.

Buồng tiêm mẫu dung tích 100 µl đến 200 µl.

Duy trì hệ thống hoạt động ở nhiệt độ ổn định (± 0,1°C).

Chuẩn hóa hệ thống sắc ký

Tiến hành tiêm lặp lại vài lần một thể tích nhất định dung dịch đánh dấu. Trên sắc ký đồ sẽ xuất hiện 2 pic, pic đầu tương ứng chất đối chiếu dextran V_o và pic thứ 2 là của dextrose. Từ thể tích rửa giải của pic tương ứng với dextran V_o , tính thể tích trống V_o và từ pic tương ứng với dextrose, tính được thể tích thẩm thấu V_i .

Tiêm một thể tích nhất định các dung dịch chuẩn. Vẽ cẩn thận đường nền của mỗi sắc ký đồ. Phân chia mỗi sắc ký đồ thành p phần (ít nhất là 60) bằng những đường gạch thẳng dọc bằng nhau (tương ứng với những thể tích rửa giải).

Trong mỗi phần, i tương ứng với một thể tích rửa giải V_i , đo chiều cao (y_i) của đường sắc ký đồ phía trên đường nền và tính hệ số phân bố K_i theo công thức:

$$\frac{(V_i - V_o)}{(V_t - V_o)} \quad (1)$$

Trong đó:

V_o là thể tích trống của cột, được xác định bởi pic tương ứng với chất đối chiếu hóa học dextran V_o trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đánh dấu;

V_i là thể tích thẩm thấu của cột, được xác định bởi pic tương ứng với dextrose trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đánh dấu;

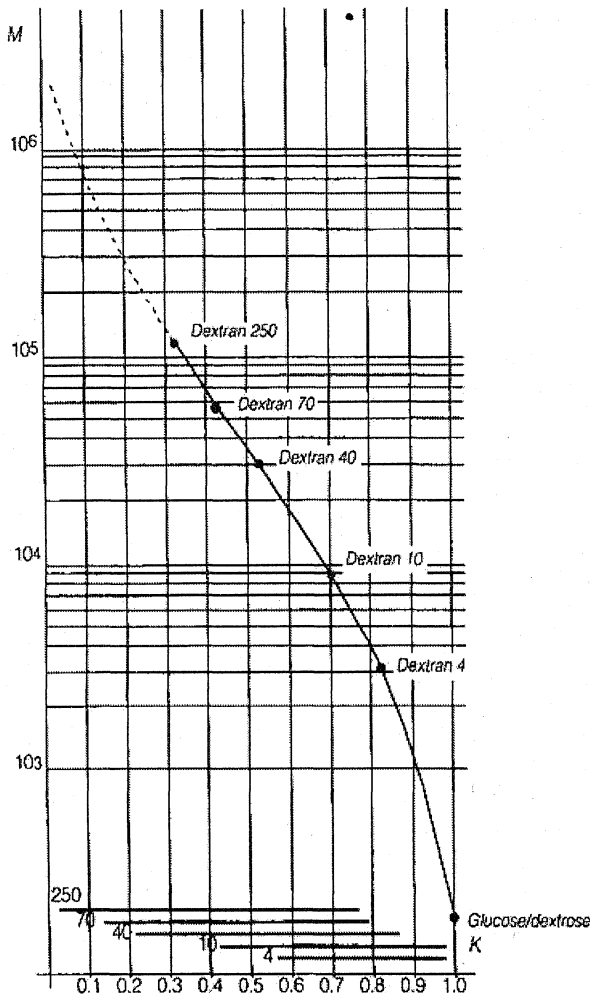
V_i là thể tích rửa giải của phần i trong sắc ký đồ thu được với mỗi dung dịch chuẩn.

Tiến hành hiệu chuẩn sử dụng một trong những phương pháp dưới đây:

Vẽ đường cong chuẩn

Với mỗi chất đối chiếu hóa học dextran dùng cho hiệu chuẩn, tính hệ số phân bố K_{max} tương ứng với chiều cao cực đại của đường sắc ký, sử dụng công thức (1). Trên giấy kẻ ô bán logarit đặt các giá trị của K_{max} (trục x) tương ứng với khối lượng phân tử ghi trên nhãn của mỗi chất dextran hiệu chuẩn và của dextrose; những

giá trị này được lấy tại điểm cao nhất của đường sắc ký (M_{max}). Vẽ đường cong chuẩn đầu tiên qua những điểm thu được, ngoại suy từ điểm K_{max} thu được với chất đối chiếu hóa học dextran 250 dùng cho hiệu chuẩn tới giá trị K thấp nhất thu được từ chất đối chiếu hóa học này (xem hình 5.5.1). Sử dụng đường cong chuẩn đầu tiên này, chuyển tất cả các giá trị K_i ở mỗi sắc ký đồ sang khối lượng phân tử tương ứng M_i để thu được sự phân bố khối lượng phân tử. Tính khối lượng phân tử trung bình M_w cho mỗi loại dextran đối chiếu hóa học sử dụng phương trình (3) dưới đây. Nếu giá trị thu được đối với M_w không khác hơn 5 % so với giá trị công bố của mỗi dextran và mức khác biệt trung bình là ± 3 %, đường cong chuẩn được chấp nhận. Nếu không đạt yêu cầu đó, chuyển dịch đường cong chuẩn dọc theo trục y và lặp lại tiến trình này cho tới khi các giá trị M_w thu được và giá trị công bố không khác nhau lớn hơn 5 %.



Hình 5.5.1- Ví dụ về đường cong chuẩn. Đường chấm chấm tương ứng với phần đường cong ngoại suy. Đường nằm ngang ở dưới cùng của đồ thị thể hiện độ rộng và vị trí của đường sắc ký thu được tương ứng với mỗi dextran chuẩn.

Tính qua đường cong chuẩn

Tính từ phương trình (2) và (3) dưới đây, sử dụng phương pháp thích hợp¹, các giá trị b_1, b_2, b_3, b_4 và b_5 cho phép thu được giá trị M_w nằm trong khoảng 5 % của tất cả những giá trị công bố từ mỗi dextran chuẩn và khối lượng phân tử của dextrose nằm trong khoảng 180 ± 2 .

$$M_i = b_5 + e^{(b_4 + b_1 K_i + b_2 K_i^2 + b_3 K_i^3)} \quad (2)$$

$$M_w = \frac{\sum_{i=1}^p (y_i M_i)}{\sum_{i=1}^p y_i} \quad (3)$$

Trong đó:

p là số phân đoạn chia trong sắc ký đồ;

y_i là chiều cao của đường sắc ký phía trên đường nền trong phân đoạn i ;

M_i là khối lượng phân tử trong phân đoạn i .

Tính phù hợp của hệ thống

Tiêm một thể tích nhất định dung dịch thử tính phù hợp hệ thống thích hợp.

Khối lượng phân tử trung bình của chất đối chiếu hóa học dextran dùng cho thử hiệu năng

Tính khối lượng phân tử trung bình M_w như đã trình bày trong phần hiệu chuẩn hệ sắc ký, sử dụng đường cong chuẩn hoặc các giá trị thu được ở trên đối với b_1, b_2, b_3, b_4, b_5 . Phép thử chỉ có giá trị khi M_w nằm trong khoảng 41 000 đến 47 000 (chất đối chiếu hóa học dextran 40 dùng cho chuẩn hiệu năng) và 67 000 đến 75 000 (chất đối chiếu hóa học dextran 60/70 dùng cho chuẩn hiệu năng).

Khối lượng phân tử trung bình của dextran phân đoạn cao 10 %

Tính M_w đối với dextran phân đoạn cao 10 % được rửa giải qua phần thứ n sử dụng công thức:

$$M_w = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i M_i)}{\sum_{i=1}^n y_i} \quad (4)$$

Với n được xác định như sau:

$$\sum_{i=1}^n y_i \leq 0,1 \left(\sum_{i=1}^p y_i \right) \quad (5)$$

$$\sum_{i=1}^{n+1} y_i > 0,1 \left(\sum_{i=1}^p y_i \right) \quad (6)$$

Trong đó:

p là số phần chia trong sắc ký đồ;

y_i là chiều cao đường sắc ký phía trên đường nền trong phần i ;

M_i là khối lượng phân tử của phần i .

Phép thử chỉ có giá trị khi M_w của dextran phân đoạn cao nằm trong khoảng: 110 000 đến 130 000 (chất đối chiếu hóa học dextran 40 dùng cho hiệu chuẩn) và 190 000 đến 230 000 (chất đối chiếu hóa học dextran 60/70 dùng cho hiệu chuẩn).

Khối lượng phân tử trung bình của dextran phân đoạn thấp 10 %

Tính M_w đối với dextran phân đoạn thấp 10 % rửa giải trong và sau phần thứ m theo công thức sau:

$$M_w = \frac{\sum_{i=m}^p (y_i M_i)}{\sum_{i=m}^p y_i} \quad (7)$$

Trong đó:

m được xác định như sau:

$$\sum_{i=m}^p y_i \leq 0,1 \left(\sum_{i=1}^p y_i \right) \quad (8)$$

$$\sum_{i=m-1}^p y_i > 0,1 \left(\sum_{i=1}^p y_i \right) \quad (9)$$

p là số phần chia trong sắc ký đồ;

y_i là chiều cao đường sắc ký phía trên đường nền trong phần i ;

M_i là khối lượng phân tử của phần i .

Phép thử chỉ có giá trị khi M_w của dextran phân đoạn thấp 10 % là: 6 000 đến 8 500 (chất đối chiếu hóa học dextran 40 dùng cho chuẩn hiệu năng) và 7 000 đến 11 000 (chất đối chiếu hóa học dextran 60/70 dùng cho chuẩn hiệu năng).

Sự phân bố khối lượng phân tử của dextran được phân tích

Tiêm một thể tích nhất định dung dịch (1) và tính M_w của phân bố tổng khối lượng phân tử, M_w của dextran phân đoạn cao 10 % và M_w của dextran phân đoạn thấp 10 % như chỉ dẫn trong phần thử tính phù hợp của hệ thống.

¹Phương pháp lặp như phương pháp Gauss – Newton cải tiến bởi Hartley là phù hợp [Xem O Hartley, *Tecnometrics*, 3 (1961) and G Nilsson and K Nilsson, *J.Chromat.* 101, 137 (1974)]. Một chương trình đường cong thích hợp xử lý tương quan hồi quy không tuyến tính chạy trên máy tính điện tử có thể được sử dụng.

5.6 PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI

Điện di là hiện tượng liên quan đến sự di chuyển của các protein, các colloid, các phân tử, hay các tiểu phân

tích điện hòa tan hoặc phân tán trong dung dịch điện giải khi có dòng điện đi qua.

Điện di được chia thành hai loại tùy theo thiết bị sử dụng: Điện di dung dịch tự do hay điện di với sự chuyển dịch của các lớp biên và điện di vùng.

Trong phương pháp điện di dung dịch tự do, dung dịch đệm của các protein trong một ống hình chữ U dưới tác dụng của dòng điện sẽ hình thành nên các lớp protein có linh độ giảm dần. Chỉ phân di chuyển nhanh nhất của protein sẽ tách rõ rệt khỏi các protein khác, kiểm tra sự dịch chuyển của các lớp biên bằng hệ thống quang học sẽ cung cấp các dữ liệu để tính toán linh độ điện di và các thông tin về mặt định tính và định lượng của thành phần hỗn hợp protein.

Trong điện di vùng, mẫu được đưa vào dưới dạng một dải hẹp hay điểm trong cột, trên tấm phẳng, hay trên một lớp phim chứa đệm. Sự di chuyển của các thành phần trong các dải hẹp cho phép tách hoàn toàn chúng. Có thể tránh sự chồng lấn giữa các dải hẹp do sự đối lưu nhiệt bằng cách đưa chất điện giải vào các nền (matrix) xốp như chất rắn dạng bột, hay nguyên liệu dạng sợi như giấy, hay gel như tinh bột, agar hoặc polyacrylamid.

Các phương pháp điện di vùng có ứng dụng rộng rãi. Điện di gel, đặc biệt là điện di đĩa được sử dụng để tách protein do khả năng cho độ phân giải cao.

Sự di chuyển điện di của các tiểu phân của một chất nhất định phụ thuộc vào tính chất của tiểu phân mà chủ yếu là điện tích, kích thước hay khối lượng phân tử và hình dạng của các tiểu phân cũng như các tính chất và các thông số thực nghiệm của hệ thống. Những thông số này bao gồm: pH, nồng độ ion, độ nhớt và nhiệt độ của chất điện giải, mật độ hoặc độ liên kết chéo của các matrix nền như gel và điện thế áp đặt.

Ảnh hưởng của điện tích, kích thước tiểu phân, độ nhớt của chất điện giải và biến thiên điện thế

Các tiểu phân tích điện sẽ di chuyển về phía điện cực ngược dấu với chúng, sự di chuyển của các phân tử tích cả điện dương và điện âm phụ thuộc vào điện tích mạng. Tốc độ di chuyển tỷ lệ thuận với độ lớn của điện tích mạng trên tiểu phân và tỷ lệ nghịch với kích thước tiểu phân, mà kích thước tiểu phân lại có liên quan trực tiếp với phân tử lượng.

Những tiểu phân hình cầu lớn, khi định luật Stoke có giá trị, linh độ điện di μ_0 sẽ tỷ lệ nghịch với bán kính của tiểu phân theo phương trình:

$$\mu_0 = \frac{v}{E} = \frac{Q}{6\pi\eta r}$$

Trong đó v là vận tốc của tiểu phân, E là thế đặt lên chất điện giải, Q là điện tích của tiểu phân, r là bán kính tiểu phân và η là độ nhớt của dung dịch chất điện giải.

Phương trình này chỉ có giá trị giới hạn ở độ pha loãng nhất định và không có sự hiện diện của các nền như giấy hoặc gel.

Các ion và peptid có trọng lượng phân tử lớn hơn 5000, đặc biệt khi có mặt môi trường nền, không tuân theo định luật Stoke và linh độ điện di của chúng được biểu thị bằng phương trình:

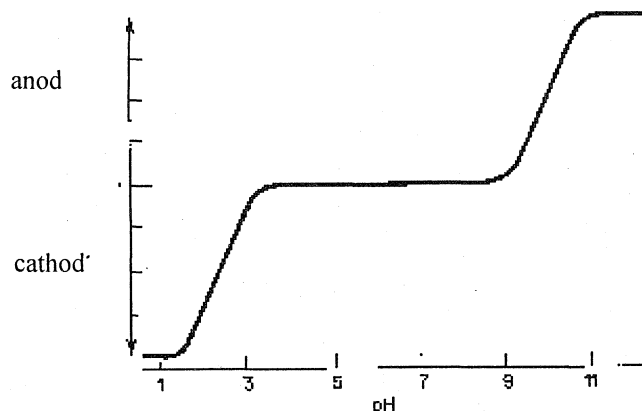
$$\mu_0 = \frac{Q}{A\pi r^2 \eta}$$

Trong đó A là thừa số hình dạng, thay đổi trong khoảng từ 4 - 6, biểu thị sự phụ thuộc tỷ lệ nghịch của linh độ điện di đối với bình phương bán kính tiểu phân. Về mặt khối lượng phân tử, linh độ điện di sẽ tỷ lệ nghịch với căn bậc ba của bình phương khối lượng phân tử.

Ảnh hưởng của pH

Hướng và tốc độ di chuyển của phân tử có nhiều nhóm chức có thể bị ion hóa như acid amin và protein sẽ phụ thuộc vào pH của dung dịch chất điện giải. Ví dụ: Linh độ điện di của acid amin đơn giản như glycine sẽ thay đổi theo giá trị pH gần đúng như trong Hình 5.6.1.

Linh độ tương đối



Hình 5.6.1

Giá trị pK_a bằng 2,2 và 9,9 trùng với điểm uốn trên biểu đồ. Do nhóm chức bị ion hóa 50 % ở giá trị $pH = pK_a$, nên linh độ điện di ở những điểm này sẽ bằng 1/2 giá trị quan sát được khi cation và anion bị ion hóa hoàn toàn lần lượt ở pH rất thấp và pH rất cao. Ion lưỡng cực tồn tại ở khoảng pH trung gian là những chất trung hòa về điện và có linh độ điện di bằng 0.

Ảnh hưởng của lực ion và nhiệt độ

Linh độ điện di sẽ giảm khi tăng lực ion của chất điện giải nền. Hoạt độ ion μ được xác định theo phương trình:

$$\mu = 0,5 \sum C_i Z_i^2$$

Trong đó C_i là nồng độ ion (mol/l), Z_i là hóa trị và tổng được tính với tất cả các ion trong dung dịch. Đối với dung dịch đệm có cả anion và cation hóa trị 1 thì lực ion được xác định bằng nồng độ mol.

Lực ion của chất điện giải dùng trong điện di nói chung nằm trong dãy từ khoảng 0,01 đến 0,10. Hoạt độ ion thích hợp phụ thuộc một phần vào thành phần của mẫu thử, do đó dung lượng đệm phải đủ lớn để duy trì pH hằng định trên diện tích của các dải hợp phần. Các dải hợp phần trở nên sắc nét hơn và hẹp hơn khi lực ion tăng.

Nhiệt độ ảnh hưởng gián tiếp lên linh độ, vì độ nhớt η của chất điện giải nền phụ thuộc vào nhiệt độ. Độ nhớt của nước sẽ giảm theo tỷ lệ khoảng 3 %/°C trong vùng từ 0 °C đến 5 °C và tỷ lệ giảm này sẽ thấp hơn khi ở nhiệt độ phòng. Bởi vậy, linh độ điện di sẽ tăng cùng với sự tăng nhiệt độ của chất điện giải.

Nhiệt giải phóng là đáng kể khi dòng điện chạy qua chất điện giải. Nhiệt này tăng cùng với sự tăng thể đặt và lực ion tăng. Ở các thiết bị lớn, cho dù có bộ phận làm lạnh, nhiệt giải phóng vẫn tạo nên sự biến thiên về nhiệt độ ở bề điện di, dẫn đến làm biến dạng các dải phân cách. Bởi vậy, cần quan tâm thiết kế các dụng cụ đặc biệt tính đến lực ion và thể đặt.

Ảnh hưởng của môi trường nền, dòng điện thẩm

Khi dòng điện chạy qua chất điện giải chứa trong ống thủy tinh hoặc chứa giữa các bản thủy tinh hoặc bản plastic thì xuất hiện dòng chất điện giải hướng về phía đầu một điện cực, gọi là dòng điện thẩm. Dòng điện thẩm được hình thành do điện tích trên bề mặt của thành dụng cụ phát sinh do quá trình ion hóa các nhóm chức trong vật liệu hay do các ion hấp phụ trên thành buồng điện di chứa các chất điện giải. Hiệu ứng này thường tăng khi buồng điện di chứa các chất xốp như gel, được sử dụng để làm ổn định cho chất điện giải nền và để phòng hiện tượng xáo trộn các dải phân tách do sự đối lưu nhiệt và hiện tượng khuếch tán. Dung dịch ngay sát trên bề mặt sẽ hình thành điện tích bằng nhưng ngược dấu với điện tích trên bề mặt và điện trường đi qua buồng điện di sẽ tạo nên sự chuyển động của dung dịch về phía điện cực ngược dấu.

Các chất thường được sử dụng làm môi trường nền trong điện di vùng sẽ tạo điện tích âm trên bề mặt, dòng điện thẩm của chất điện giải sẽ di chuyển về phía cathod. Vì vậy tất cả các vùng, bao gồm cả các chất trung tính sẽ di chuyển về phía cathod trong quá trình điện di.

Mức độ thẩm thấu sẽ thay đổi khi các chất nền thay đổi. Độ thẩm thấu thay đổi đáng kể đối với gel agar và thay đổi không đáng kể đối với gel polyacrylamid.

Sự rây phân tử

Khi không có sự hiện diện của môi trường nền hay trong trường hợp môi trường rất xốp thì sự tách điện di của các phân tử là do sự khác nhau về tỷ lệ của điện tích với kích thước phân tử. Nếu có sự hiện diện của chất nền, sự khác nhau về khả năng hấp phụ hay ái lực của phân tử đối với môi trường tạo nên hiệu ứng sắc ký có thể làm tăng hiệu quả tách.

Hiệu ứng rây phân tử sẽ xuất hiện nếu môi trường nền là các loại gel có sự phân nhánh nhiều đến mức tạo thành các lỗ xốp để tách các phân tử theo kích thước. Hiệu ứng này tương đương hiệu ứng thu được trong quá trình tách thẩm thấu gel hay sắc ký rây phân tử, nhưng trong điện di gel hiệu ứng này chồng lên quá trình tách điện di. Có thể nhận thấy sự rây phân tử do cản trở không gian đối với sự di chuyển của các phân tử lớn. Các phân tử nhỏ di chuyển qua các lỗ xốp có kích thước lớn, nên sự điện di qua gel không bị cản trở. Khi kích thước phân tử tăng, một số ít hơn các lỗ xốp cho phép các phân tử đi qua, làm chậm sự di chuyển của các phân tử có trọng lượng phân tử lớn.

Điện di gel

Quá trình sử dụng một gel như agar (thạch), tinh bột hay polyacrylamid làm môi trường nền được hiểu theo nghĩa rộng là điện di gel. Phương pháp này đặc biệt thuận lợi cho sự tách các protein. Sự tách này đạt được tùy thuộc vào tỷ lệ điện tích đối với kích thước phân tử đi đối với hiệu ứng rây phân tử phụ thuộc chủ yếu vào khối lượng phân tử.

Gel polyacrylamid được sử dụng nhiều do có một số thuận lợi. Nó có đặc tính ít hấp phụ và tạo nên hiệu ứng dòng điện thẩm không đáng kể. Các gel với dải rộng các lỗ xốp có kích thước khác nhau có thể được điều chế bằng cách thay đổi nồng độ gel tổng cộng (dựa trên monomer kết hợp với các yếu tố tạo mạch nhánh) và phần trăm của chất tạo mạch nhánh dùng để tạo gel. Lượng các chất được biểu thị bằng phương trình sau:

$$T(\%) = \frac{a+b}{V} 100$$

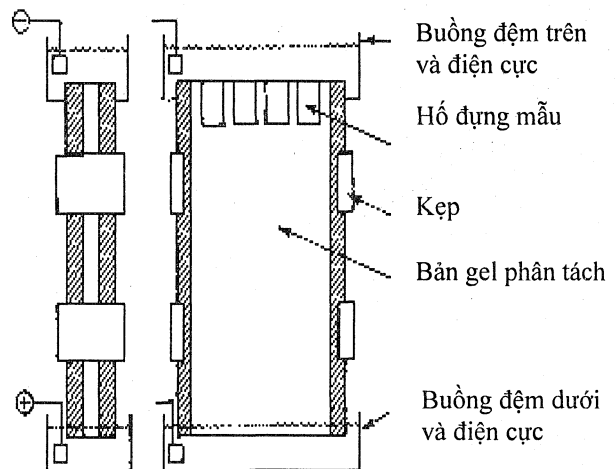
$$C(\%) = \frac{b}{a+b} 100$$

Trong đó T là nồng độ gel tổng cộng (%), C là phần trăm tác nhân tạo mạch nhánh dùng để tạo gel, V là thể tích (mL) của đệm dùng để điều chế gel, a và b là khối lượng (g) của monomer (acrylamid) và tác nhân tạo mạch nhánh (thường dùng N,N'-metylenbisacrylamid) dùng để điều chế gel. Các gel thích hợp có nồng độ trong khoảng 3 % - 30 %. Tổng tác nhân tạo mạch nhánh thường chiếm khoảng 1/10 đến 1/20 lượng monomer (C = từ 10 % đến 5 %), tỷ lệ phần trăm nhỏ hơn được dùng cho giá trị cao hơn của T.

Trong quá trình điều chế gel, bể của dụng cụ điện di chứa dung dịch nước của monomer và tác nhân tạo mạch nhánh, thường được cân bằng bằng dung dịch đệm đến pH mong muốn trong những lần chạy cuối và được polymer hóa tại chỗ bằng quá trình gốc tự do. Quá trình polymer hóa được kích hoạt bởi quá trình hóa học, thông thường sử dụng amoni persulfat kết hợp với N,N,N',N'-tetramethyldiamin hay quang hóa hỗn hợp riboflavin và N,N,N',N'-tetramethyldiamin. Quá trình polymer hóa bị cản trở bởi các phân tử oxy và môi trường acid. Lựa chọn thành phần của gel và điều kiện polymer hóa phải bảo đảm chất lượng của gel.

Thiết bị cho điện di gel

Nói chung bể hay môi trường để thực hiện quá trình điện di có thể được đặt theo phương thẳng đứng hay nằm ngang tùy theo thiết kế của thiết bị. Để so sánh sự tách có thể thực hiện trong một số ống riêng biệt hay đưa các mẫu khác nhau vào các hồ kê bên nhau vào khuôn hay cắt vào phiến của gel. Phiến gel thẳng đứng như mô tả trong Hình 5.6.2 thuận lợi cho sự so sánh trực tiếp một số mẫu.



Hình 5.6.2 - Thiết bị điện di gel phiến thẳng đứng

Tốt nhất là sự so sánh các mẫu trong cùng một bản gel, như vậy sẽ đồng nhất hơn về mặt thành phần so với các khuôn gel trong nhiều bể điện di.

Đặc tính của nhiều loại thiết bị là phải hàn kín buồng đệm phía dưới với chân đế của bể điện di, cho phép mức đệm trong buồng đệm phía dưới bằng mức đệm trong buồng đệm phía trên để loại trừ áp suất thủy tĩnh trên gel. Ngoài ra có một vài bộ phận tuần hoàn làm lạnh cả hai mặt bể điện di gel.

Để điều chế gel, buồng gel được đầy bằng nắp thích hợp có chứa dung dịch monomer, tác nhân tạo mạch nhánh và chất xúc tác. Một cái lược có răng với kích thước thích hợp được đặt lên phía trên và cho phép quá trình polymer hóa xảy ra hoàn toàn. Sau khi lấy lược ra sẽ tạo thành các hồ trên bản gel được polymer hóa.

Trong điện di gel đơn giản, chỉ sử dụng một dung dịch đệm cho vào buồng đệm phía trên và phía dưới giống nhau. Sau khi cho dung dịch đệm vào buồng đệm, mẫu được hòa tan trong nước đường hay dung dịch đặc và hơi nhớt khác để phòng sự khuếch tán. Sau đó mẫu được đưa vào đáy các hố đựng mẫu bằng bơm tiêm hay micropipet và bắt đầu thực hiện quá trình điện di.

Điện di đĩa

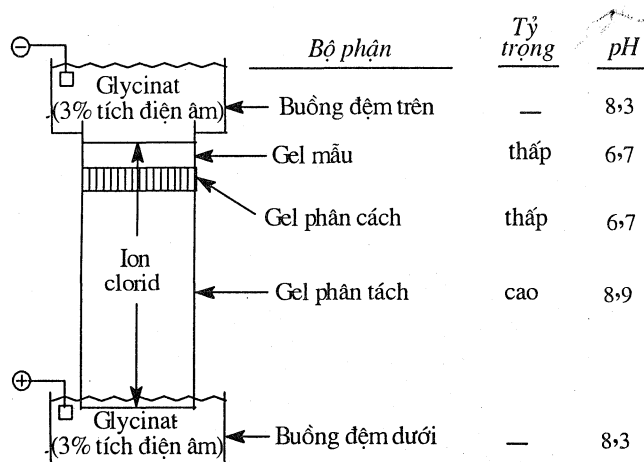
Điện di gel polyacrylamid sử dụng một dãy không liên tục các đệm và cũng thường sử dụng nhiều lớp gel không liên tục, được gọi là điện di đĩa. Tên của phương pháp xuất phát từ dạng hình dạng đĩa của các dải hẹp được tạo thành. Do tạo thành các dải hẹp, nên kỹ thuật này có độ phân giải đặc biệt cao và thường được sử dụng trong phân tích đặc tính của hỗn hợp protein và phát hiện tạp chất mà có thể có linh độ gần thành phần chính.

Cơ sở của điện di đĩa được trình bày trong phần sau có liên quan đến các hệ anion thích hợp cho việc phân tách protein mang điện tích âm. Để hiểu được điện di đĩa cần phải có kiến thức chung về điện di và dụng cụ đã được mô tả.

Cơ sở của điện di đĩa

Độ phân giải cao thu được trong điện di đĩa phụ thuộc vào việc sử dụng hệ đệm không liên tục về pH và thành phần. Thường phối hợp hai hoặc ba gel khác nhau về tỷ trọng.

Hệ thống điển hình được mô tả trong Hình 5.6.3.



Hình 5.6.3 - Thuật ngữ, pH đệm và thành phần đệm cho điện di đĩa acrylamid

Gel phân tách có chiều cao vài cm với tỷ trọng cao ($T = 10\% - 30\%$) được polymer hóa trong đệm tris-clorid trong bể của thiết bị. Trong quá trình polymer hóa đệm được phủ lên một lớp nước mỏng để phòng hiện tượng tạo thành mặt khum trên bề mặt

của gel. Lớp nước phủ lên sau đó được loại đi, lớp gel mỏng tỷ trọng thấp ($T = 3\%$), có bề dày 3 mm đến 10 mm được gọi là khoảng trống hay gel phân cách, được polymer hóa trong đệm tris-clorid trên mặt của gel phân tách. Lớp nước phủ phía trên lại tiếp tục được sử dụng để tạo mặt phẳng. Mẫu được trộn với một lượng nhỏ dung dịch monomer dùng để tạo gel phân cách, đổ lên mặt của gel phân cách và được polymer hóa. pH của gel phân tách thường là 8,9, trong khi đó pH của gel phân cách và gel chứa mẫu là 6,7. Tất cả ba loại gel này được điều chế dùng clorid làm anion.

Dung dịch đệm chứa trong buồng chứa đệm phía trên và phía dưới có pH là 8,3 và được điều chế từ tris và glycine. Ở pH này khoảng 3 % phân tử glycine mang điện tích âm.

Khi đặt điện thế lên hệ thống, lớp tiếp giáp glycinate-clorid sẽ di chuyển theo hướng đi xuống và về phía anod. Lớp tiếp giáp bắt đầu ở vị trí lớp tiếp xúc của buồng chứa đệm phía trên và đỉnh của lớp gel chứa mẫu. Tại đây ion clorid do có kích thước nhỏ nên sẽ di chuyển nhanh hơn bất kỳ protein nào hiện diện trong mẫu. pH của lớp gel mẫu và lớp gel phân cách được chọn phải thấp hơn giá trị pKa cao của glycine khoảng 3 đơn vị. Do vậy, khi băng qua các lớp gel này, chỉ có khoảng 0,1 % phân tử glycine tích điện âm. Cho nên, glycine sẽ di chuyển chậm hơn clorid. Khuynh hướng dịch chuyển nhanh hơn của clorid khỏi glycinate làm giảm nồng độ nơi tiếp giáp, tạo nên sự giảm thế nhiều hơn ở lớp tiếp giáp, điều này làm cho glycinate bắt kịp ion clorid. Trong điều kiện này, lớp tiếp giáp rất hẹp được duy trì, và khi đó nó di chuyển qua lớp gel mẫu thử và lớp gel phân cách, các protein trong mẫu thử ở lớp tiếp giáp sắp xếp thành lớp rất mỏng theo thứ tự về linh độ. Quá trình này là nguồn gốc của việc các đĩa được phân tách. Các protein được sắp xếp theo trình tự khi tiếp xúc với gel phân tách tỷ trọng cao, chúng sẽ di chuyển chậm lại do quá trình rây phân tử. pH cao hơn trong gel phân tách làm cho glycinate di chuyển nhanh hơn, đến mức độ làm cho lớp tiếp xúc của các đệm không liên tục sẽ vượt qua các protein và cuối cùng sẽ tiếp xúc với đáy của gel phân tách. Trong chu trình này, các đĩa protein tiếp tục phân tách bằng quá trình điện di và quá trình rây phân tử trong gel phân tách. Kết thúc quá trình tách, pH của gel phân tách sẽ tăng từ giá trị ban đầu là 8,9 lên khoảng pH 9,5.

Linh độ tương đối

Bromophenol xanh thường được sử dụng như là một chuẩn để tính toán linh độ tương đối của các dải phân tách và để quan sát các quá trình tách. Nó có thể được thêm vào trong hố đựng mẫu hoặc trộn lẫn với mẫu, hoặc đơn giản được thêm vào dung dịch đệm ở buồng chứa đệm phía trên.

Linh độ tương đối M_B được tính toán như sau:

$$M_B = \frac{a}{b}$$

Trong đó:

a là khoảng cách từ mốc xuất phát đến vùng mẫu và b là khoảng cách từ mốc xuất phát đến vùng bromo-phenol xanh.

Quan sát các vùng phân tách

Do polyacrylamid trong suốt, nên các dải protein có thể được quan sát bằng đo mật độ quang với ánh sáng UV. Các vùng có thể cố định bằng cách nhúng vào các dung dịch làm tủa protein như acid phosphotungstic hoặc acid trichloroacetic 10 %. Các thuốc thử hiện màu được sử dụng bao gồm naphthalen đen (amido đen) và Coomassie lam sáng R250. Những vùng được cố định hay có màu có thể được quan sát một cách thuận lợi và được chụp ảnh với ánh sáng truyền qua từ nguồn phát tia X.

Những điều an toàn cần chú ý

Thế sử dụng trong điện di có thể gây sốc chết người. Nguy cơ này sẽ tăng do sử dụng dung dịch đệm nước và điều kiện môi trường làm việc ẩm ướt.

Bộ phận cung cấp nguồn của thiết bị cần được bao lại trong các lồng kim loại có dây nối đất hoặc cần được chế tạo bằng các vật liệu cách điện, các lồng kim loại này cần có chốt tự cắt nguồn khi mở nắp thiết bị.

Vì sự nguy hiểm của thế cao áp, nhân viên phòng thí nghiệm cần làm quen với thiết bị trước khi sử dụng chúng.

5.7 PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI MAO QUẢN

Điện di là hiện tượng di chuyển của tiểu phân tích điện hòa tan hay phân tán trong chất điện giải khi có dòng điện đi qua. Cation di chuyển về phía cực âm (cathod), anion di chuyển về phía cực dương (anod). Các phân tử không tích điện không bị hút về phía hai điện cực.

Trong phương pháp điện di mao quản (CE) việc sử dụng mao quản để làm kênh di chuyển cho phép thực hiện quá trình tách điện di trên một thiết bị có thể so sánh với thiết bị của sắc ký lỏng hiệu năng cao. Tuy nhiên, vẫn còn những khác biệt rõ rệt về cách vận hành, những điểm thuận lợi và không thuận lợi so với sắc ký lỏng hiệu năng cao. Quá trình vận hành của CE điển hình với mao quản mà mặt trong thành mao quản không có lớp bao và mao quản chứa dung dịch “đệm làm việc”, thì nhóm silanol hiện diện trên thành phía trong của mao quản thủy tinh sẽ giải phóng ion hydrogen vào dung dịch đệm và bề mặt thành mao quản sẽ tích điện âm ngay cả ở pH rất thấp. Cation hay các chất hòa tan tích điện dương một phần trong môi trường bị hút tĩnh điện vào thành mao quản tích

điện âm tạo nên một lớp điện tích kép. Quá trình điện di bắt đầu bằng cách đặt thế trên chiều dài cột mao quản làm cho phần dung dịch của lớp điện tích kép di chuyển về phía đầu cathod của mao quản kéo theo khối dung dịch. Sự chuyển động của khối dung dịch dưới tác dụng của lực điện trường được gọi là dòng điện thẩm (electroosmotic flow - EOF). Mức độ ion hóa của nhóm silanol trên thành mao quản phụ thuộc chủ yếu vào pH của dung dịch đệm làm việc và các chất điều chỉnh được thêm vào chất điện giải. Ở pH thấp, nhóm silanol nói chung có độ ion hóa thấp và dòng EOF nhỏ. Ở pH cao hơn, nhóm silanol bị ion hóa nhiều hơn và dòng EOF tăng. Trong một số trường hợp, các dung môi hữu cơ như methanol hay acetonitril được cho thêm vào dung dịch đệm để làm tăng độ tan của các chất hòa tan và các chất phụ gia hay để ảnh hưởng đến mức độ ion hóa của mẫu. Nói chung, việc thêm các chất điều chỉnh hữu cơ sẽ làm giảm dòng EOF. Detector được đặt về phía đầu cathod của mao quản. Dòng EOF thường lớn hơn linh độ điện di. Do vậy, ngay cả anion cũng bị đẩy về phía cathod và detector. Khi sử dụng đệm phosphat pH 7,0 ở mao quản không có lớp bao, thông thường trình tự xuất hiện các chất tan trong điện di đồ là các cation, các chất trung tính và các anion.

Hiện nay, có 5 loại chủ yếu của điện di mao quản:

Điện di mao quản vùng (capillary zone electrophoresis - CZE) còn gọi là điện di dung dịch tự do hay điện di mao quản dòng tự do.

Sắc ký mixen điện động, còn gọi là sắc ký điện động mixen (micellar electrokinetic chromatography - MEKC).

Điện di mao quản gel (capillary gel electrophoresis - CGE).

Điện di mao quản hội tụ đẳng điện (capillary isoelectric focusing - CIEF)

Điện di mao quản đẳng tốc (capillary isotachopheresis - CITP).

Trong **điện di mao quản vùng**, quá trình tách được kiểm soát bằng sự khác nhau về linh độ tương đối của từng thành phần trong mẫu thử hoặc dung dịch thử. Linh độ là hàm số của điện tích chất phân tích và kích thước trong điều kiện nhất định của phương pháp. Chúng được tối ưu hóa bằng cách kiểm soát các thành phần của đệm, pH và lực ion.

Trong **sắc ký mixen điện động**, các chất hoạt động bề mặt được thêm vào dung dịch đệm làm việc ở nồng độ lớn hơn nồng độ mixen tới hạn. Các chất phân tích có thể phân bố trong pha tĩnh giả do mixen tạo thành. Kỹ thuật này thường được ứng dụng để tách các chất trung tính và các ion.

Trong **điện di mao quản gel**, tương tự như lọc gel, sử dụng các mao quản chứa gel để tách các phân tử, dựa

trên cơ sở sự khác nhau tương đối về khối lượng phân tử hay kích thước phân tử. Nó được dùng chủ yếu để tách các protein, peptid và các oligomer. Các gel có ưu điểm là làm giảm dòng EOF và đồng thời làm giảm một cách đáng kể sự hấp phụ protein trên thành phía trong của mao quản, do đó làm giảm đáng kể hiệu ứng bất đối của pic.

Trong **điện di mao quản hội tụ đẳng điện**, các chất được tách trên cơ sở sự khác nhau tương đối về điểm đẳng điện. Nó được thực hiện bằng cách biến đổi pH đệm để thu được các vùng mẫu thử ở trạng thái bền (pH thấp ở anod và pH cao ở cathod). Quá trình biến đổi được xác lập bằng cách đặt thể vào mao quản chứa hỗn hợp thành phần của các chất mang bao gồm các chất lưỡng cực có giá trị pI khác nhau.

Trong **điện di mao quản đẳng tốc** sử dụng hai đệm bao quanh các vùng chất phân tích. Cả anion và cation có thể tách thành những vùng rõ rệt. Ngoài ra, nồng độ chất phân tích như nhau trong mỗi vùng. Như vậy, chiều dài của mỗi vùng sẽ tỷ lệ thuận với lượng chất phân tích.

Hai kỹ thuật điện di mao quản thường được sử dụng nhiều nhất là điện di mao quản vùng và sắc ký mixen điện động. Chúng được đề cập một cách tóm tắt trong các phần sau.

Nguyên lý của điện di mao quản vùng

Điện di mao quản vùng sử dụng nguyên lý của điện di và điện thẩm để tách các tiểu phân tích điện.

Linh độ điện di của ion (μ_{EP}), được biểu diễn bằng phương trình:

$$\mu_{EP} = q / (6\pi\eta r)$$

Trong đó q là điện tích của ion, η là độ nhớt dung dịch và r là bán kính của ion hydrat hóa. Từ mối liên hệ này suy ra, chất phân tích kích thước nhỏ, điện tích lớn có linh độ lớn. Chất phân tích kích thước lớn, điện tích nhỏ có linh độ thấp.

Tốc độ di chuyển (v_{EP}), tính bằng cm/s, được biểu thị bằng phương trình:

$$v_{EP} = \mu_{EP} (V / L)$$

Trong đó μ_{EP} là linh độ điện di, V là điện thế đặt và L là chiều dài (cm) tổng cộng của mao quản.

Tốc độ của EOF (v_{EO}), tính bằng cm/s, được biểu diễn bằng phương trình:

$$v_{EO} = \mu_{EO} (V / L)$$

Trong đó μ_{EO} là linh độ của EOF (hệ số của dòng EOF) và các ký hiệu khác được định nghĩa như trên.

Thời gian (t), tính bằng giây, cần thiết cho chất tan di chuyển trên toàn bộ chiều dài hiệu dụng (l) của mao quản (từ đầu vào đến detector), t được biểu thị bằng hệ thức sau:

$$t = l / [E(\mu_{EP} + \mu_{EO})] = lL / [V(\mu_{EP} + \mu_{EO})]$$

Trong đó E là cường độ điện trường và các ký hiệu khác được định nghĩa như ở trên.

Hiệu lực của hệ thống điện di có thể liên quan đến linh độ, dòng EOF và được biểu thị bằng số đĩa lý thuyết (N), được tính bằng phương trình:

$$N = (\mu_{EP} + \mu_{EO}) / (2D)$$

Trong đó D là hệ số khuếch tán của chất hòa tan và các ký hiệu khác được định nghĩa như trên.

Độ phân giải (R) của hai chất hòa tan được rửa giải kế tiếp nhau, có thể xác định bằng phương trình:

$$R = 0,18(\mu_{EP1} - \mu_{EP2}) [V / D(\bar{\mu}_{EP} + \mu_{EO})]^{\frac{1}{2}}$$

Trong đó: μ_{EP1} và μ_{EP2} là linh độ của hai chất hòa tan; $\bar{\mu}_{EP}$ là linh độ trung bình của hai chất tan và các ký hiệu khác được định nghĩa như trên.

Nguyên lý của sắc ký mixen điện động

Trong MEKC, môi trường chất điện giải nên có chứa chất hoạt động bề mặt ở nồng độ cao hơn nồng độ mixen tới hạn (CMC). Trong môi trường nước, các chất hoạt động bề mặt tự ngưng kết và hình thành mixen gồm nhóm có đầu thân nước tạo nên một lớp áo bên ngoài và nhóm có đuôi không thân nước tạo nhân không phân cực ở bên trong mixen để cho các chất tan có thể phân bố. Nói chung, các mixen có những anion trên bề mặt ngoài, dưới tác dụng của điện thế áp đặt chúng di chuyển theo hướng ngược lại so với dòng EOF. Kiểu phân bố này tương tự với phân bố trong chiết xuất với dung môi hay trong sắc ký lỏng hiệu năng cao pha đảo. Sự phân bố khác nhau của các phân tử trung tính vào pha động nước và pha "tĩnh giả" mixen là cơ sở duy nhất cho quá trình tách. Dung dịch đệm và các mixen tạo thành hệ thống hai pha, chất tan có thể phân bố giữa hai pha này.

Hệ thống mixen thích hợp cho MEKC phải đáp ứng các tiêu chuẩn sau: Chất hoạt động bề mặt tan tốt trong đệm và dung dịch mixen đồng nhất và trong suốt đối với detector UV. Chất hoạt động bề mặt phổ biến nhất cho MEKC là natri dodecyl sulfat (chất hoạt động bề mặt anion). Những chất hoạt động khác bao gồm cetyltrimethylamonium bromid (chất hoạt động bề mặt cation) và các muối mật (chất hoạt động bề mặt chiral). Độ chọn lọc của hệ thống MEKC chủ yếu tùy thuộc vào bản chất của chất hoạt động bề mặt. Dung môi hữu cơ thường thêm vào trong đệm MEKC để điều chỉnh hệ số dung lượng, tương tự như trong tách bằng sắc ký lỏng pha đảo. MEKC có thể sử dụng để tách các đồng phân đối quang. Để tách các đồng phân, trong dung dịch đệm được thêm vào các chất phụ gia chiral hoặc chất hoạt động bề mặt chiral như muối mật.

Kiến thức chung về sắc ký cột cổ điển sẽ hỗ trợ cho sự hiểu biết nguyên lý MEKC. Tuy vậy, trong MEKC, các mixen không thuần túy là pha tĩnh. Bởi vậy, lý thuyết sắc ký cột cần thiết phải được điều chỉnh. Sự điều chỉnh cơ bản đối với nguyên lý của MEKC là bản chất xác định của cửa sổ tách đối với các phân tử trung tính.

Thời gian lưu (t_R) đối với các chất trung tính được biểu diễn bằng phương trình sau:

$$t_R = (1 + k')t_0 / [1 + (t_0 / t_{MC})]$$

Trong đó, t_0 là thời gian yêu cầu đối với chất không lưu giữ đi qua chiều dài hiệu dụng của cột mao quản, t_{MC} là thời gian cần để mixen đi qua mao quản, k' là hệ số dung lượng và t_R luôn luôn ở giữa giá trị t_0 và t_{MC} .

Hệ số dung lượng (k') đối với các chất trung tính được tính theo phương trình:

$$k' = (t_R / t_0 - 1) / (1 - t_R / t_{MC})$$

Trong đó các ký hiệu được định nghĩa như trên.

Để áp dụng cho mục đích thực tiễn, k' được tính bằng phương trình:

$$k' = t_R / t_0 - 1$$

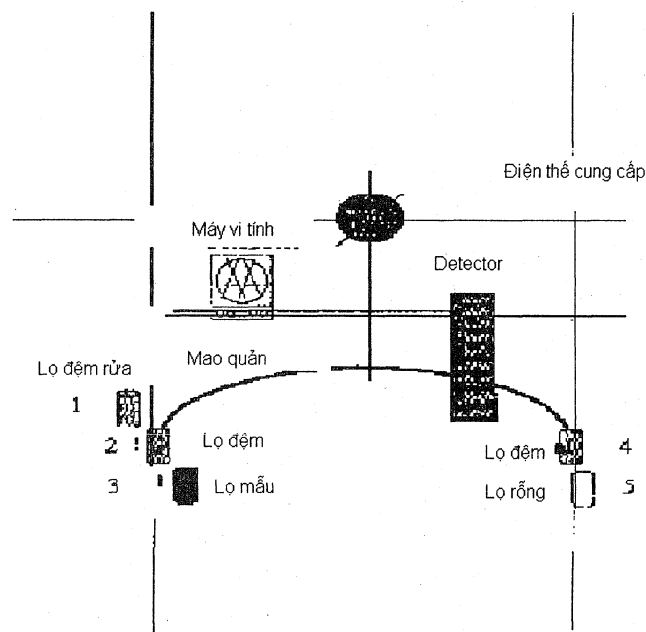
Trong đó t_R là thời gian được đo từ thời điểm đặt thế (hoặc điểm bắt đầu tiêm mẫu) đến thời điểm ứng với đỉnh pic tối đa, t_0 được đo từ điểm đặt thế (hoặc điểm bắt đầu tiêm mẫu) đến điểm biên phía trước của pic dung môi hay đến tín hiệu của chất không lưu giữ. k' trong MEKC có ý nghĩa nhất định và là đặc trưng của một chất tan nhất định trong hệ MEKC. Những bàn luận khác của k' được trình bày trong phần tính phù hợp hệ thống trong mục các thông số làm việc. Độ phân giải (R_s) đối với các chất trung tính được tính bằng phương trình:

$$R_s = \left[\frac{\sqrt{N}}{4} \right] \left[\frac{(\alpha - 1)/\alpha}{[k'_2 / (1 + k'_2)]} \right] \left[\frac{(1 - (t_0 / t_{MC}))}{(1 + (t_0 / t_{MC})k'_1)} \right]$$

Trong đó α là độ chọn lọc, bằng tỷ số của k'_2 đối với k'_1 trong điều kiện cụ thể cho việc tách hai chất tan. Nếu hai chất tan rửa giải gần nhau ($\alpha \leq 1,1$), có thể dùng một trong hai trị giá k' . Phương trình chứng tỏ rằng, cũng như với sắc ký kinh điển, độ phân giải trong MEKC có thể được cải thiện qua việc kiểm soát hiệu lực của hệ thống, độ chọn lọc, sự lưu giữ và bản chất hóa học của các chất hoạt động bề mặt. Hạng tử cuối cùng của phương trình chính là khoảng rửa giải giới hạn. Mặc dầu MEKC đặc biệt hữu hiệu trong tách các chất trung tính, kỹ thuật này cũng có thể được áp dụng cho việc tách các chất tan tích điện. Quy trình

sau đây liên quan đến sự phối hợp cơ chế tách giữa sắc ký và điện di. Tương tác giữa chất tan tích điện và mixen có thể được sử dụng để tối ưu hóa sự tách. Cặp ion có thể hình thành nếu như điện tích trên chất hoạt động bề mặt và chất tan là trái dấu nhau. Trong trường hợp ngược lại, chất hoạt động bề mặt và chất tan đẩy nhau. Sự khác biệt này có thể ảnh hưởng có ý nghĩa đến sự tách của các phân tử tích điện.

Các điều chú ý đối với thiết bị



Hình 5.7 - Cấu hình thiết bị CE điển hình

Hệ thống CE điển hình (Hình 5.7) bao gồm một mao quản bằng silica nung chảy có đường kính trong từ 50 μm đến 100 μm và chiều dài từ 20 cm đến 100 cm. Các đầu mao quản được nhúng vào các bình điện giải riêng biệt. Nguồn cung cấp điện một chiều có khả năng tạo điện áp cao từ 0 kV đến 30 kV. Thêm vào đó một detector, bộ phận tiêm mẫu tự động và thiết bị ghi dữ liệu là đủ một hệ thiết bị CE. Hệ thống cung cấp dung dịch đệm tự động và hệ thống kiểm soát bằng máy vi tính, ghi nhận dữ liệu hay kiểm soát nhiệt độ cho cả mao quản và bộ phận tiêm mẫu tự động có thể thấy ở các thiết bị có mặt trên thị trường.

Những điều cần quan tâm đầu tiên đối với thiết bị là kiểu mao quản, cấu hình, cách tiêm mẫu, nguồn cung cấp điện và kiểu detector.

Các loại mao quản và cấu hình thiết bị

Mao quản dùng trong CZE thường được làm bằng silica nung chảy và không có lớp bao mặt trong mao quản. Một vài thiết bị có cấu hình với cột mao quản để tự do, nghĩa là mao quản không đưa vào bên trong hộp chứa. Trong hầu hết các thiết bị trên thị trường, mao quản được đặt vào trong một hộp chứa. Cả hai

cầu hình đều có những ưu và nhược điểm riêng. Điều quan trọng là khả năng của thiết bị có thể tương thích được các loại mao quản khác nhau với chiều dài và đường kính mao quản khác nhau. Mao quản với chất bao mặt trong khác nhau hiện nay cũng có mặt trên thị trường. Bởi vậy, khả năng tương thích với các loại cột khác nhau rất quan trọng. Các chất bao mặt trong mao quản có thể được sử dụng để thay đổi cường độ hay hướng của dòng EOF hay làm giảm sự hấp phụ của mẫu. Nếu sử dụng mao quản có chất bao mặt trong, phải có ghi các chi tiết về chất bao và nhà cung cấp trong phương pháp. Mao quản từ nhà cung cấp khác cũng có thể được sử dụng nếu chúng thích hợp.

Kỹ thuật đưa mẫu và tiêm mẫu

Cách đưa mẫu vào trong mao quản bao gồm tiêm kiểu di chuyển điện (kiểu điện động), và tiêm áp suất âm và tiêm áp suất dương (kiểu thủy tĩnh).

Để tiêm kiểu di chuyển điện, dung dịch mẫu được đưa vào mao quản bằng cách nhúng mao quản và điện cực vào trong lọ mẫu và đặt lên đó một điện thế cao trong thời gian ngắn. Mẫu đi vào mao quản bằng sự phối hợp của điện di và dòng EOF. Bởi vậy, các chất phân tích có linh độ khác nhau đi vào trong mao quản ở mức độ khác nhau. Độ dẫn của mẫu thử và chất chuẩn cũng ảnh hưởng đến dòng EOF và thể tích tiêm.

Tiêm áp suất âm là đặt áp suất âm ở đầu mao quản có detector và hút dung dịch mẫu vào đầu tiêm của mao quản. Tiêm áp suất dương là tạo áp suất lên lọ chứa mẫu, đẩy mẫu vào trong mao quản. Tiêm áp suất có thể đưa tất cả các thành phần của mẫu vào trong mao quản ở cùng một mức độ, nói chung là cho độ tái lập tốt nhất và là cách tiêm thường được áp dụng nhất. Thể tích mẫu phụ thuộc vào chiều dài và đường kính trong của mao quản và điện thế hay áp suất áp đặt. Thể tích mẫu đặc trưng được tiêm vào trong mao quản khoảng từ 1 nl đến 20 nl.

Mỗi một phương pháp tiêm mẫu có những ưu và nhược điểm riêng, tùy thuộc vào thành phần của mẫu, kiểu tách và áp dụng phương pháp. Không có kiểu tiêm mẫu nào nói trên có độ tái lập như bộ tiêm mẫu của máy sắc ký lỏng hiệu năng cao hiện đang có mặt trên thị trường. Tùy theo hoàn cảnh cụ thể, cần thiết phải sử dụng chất chuẩn nội cho các phương pháp cụ thể khi cần sự tiêm mẫu chính xác.

Cung cấp nguồn điện

Hầu hết các thiết bị CE có mặt trên thị trường có nguồn điện một chiều, nó có khả năng tạo nguồn điện thay đổi từ từ hay từng nấc đảm bảo duy trì được điện thế mong muốn một cách ổn định. Điều này sẽ đảm bảo có được đường nền tương đối phẳng.

Một đặc điểm thiết yếu khác của nguồn điện là khả năng sử dụng nguồn này để đưa mẫu vào đầu cathod hay anod của mao quản. Bởi vì trên thực tế không thể

thay đổi vị trí detector từ đầu này đến đầu kia của thiết bị, mà chỉ có thể ấn định đầu tiêm mẫu ở phía cathod hay anod.

Các kiểu detector

Nói chung hệ thống CE thường ghép với các detector UV-VIS và detector huỳnh quang cảm ứng laser. Detector quét phổ UV hay detector dây diod có thể thấy ở nhiều thiết bị CE hiện có mặt trên thị trường.

Sự ghép nối CE với phổ khối cho phép thu được thông tin về cấu trúc kết hợp các dữ liệu điện di.

Phát hiện bằng detector huỳnh quang sẽ làm tăng độ nhạy phát hiện đối với mẫu chứa một lượng rất nhỏ chất cần phân tích có khả năng hấp thụ UV. Việc ghép một nhóm huỳnh quang với những chất không hấp thụ UV có thể là có ích. Các chất không hấp thụ UV hoặc không phát quang có thể được phát hiện bằng cách thêm trực tiếp vào dung dịch đệm các chất mang màu hay chất có huỳnh quang. Các chất không hấp thụ được phát hiện nhờ sự mất tín hiệu so với chất nền hấp thụ hay huỳnh quang. Detector đo độ dẫn và đo amper có thể được sử dụng, nhưng nói chung chúng không thông dụng ở các thiết bị có mặt trên thị trường.

Những điểm cần chú ý khi phân tích mẫu

Một vài thông số như kích thước mao quản, điện thế, lực ion và pH được tối ưu hóa để đạt độ phân giải và sự tách phù hợp. Cần tránh sự thay đổi nhiệt độ vì sẽ ảnh hưởng đến độ nhớt của dung dịch đệm và ảnh hưởng cả đến dòng EOF và linh độ của chất tan.

Kích thước mao quản

Những thay đổi về đường kính và chiều dài mao quản có thể ảnh hưởng đến độ phân giải điện di. Chiều dài mao quản tăng sẽ kéo dài thời gian di chuyển, thông thường sẽ tăng độ phân giải và làm giảm dòng điện. Đường kính mao quản tăng thường làm tăng dòng điện và tạo ra gradient nhiệt độ bên trong cột, dẫn đến làm giảm độ phân giải. Ngược lại, giảm đường kính trong của mao quản sẽ làm giảm sinh nhiệt và cho độ phân giải tốt hơn. Tuy nhiên, ở mao quản có đường kính lớn hơn sẽ có thuận lợi là tiêm được lượng mẫu nhiều hơn và cải thiện được tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu.

Ảnh hưởng điện thế

Khi đặt một điện thế cao hơn, xảy ra sự tăng sinh nhiệt của dung dịch đệm làm việc bên trong mao quản vì có dòng điện đi qua dung dịch đệm. Hiệu ứng nhiệt này còn gọi là nhiệt Jun cần phải được kiểm soát vì trở kháng, hằng số điện môi và độ nhớt phụ thuộc vào nhiệt độ và làm thay đổi tốc độ dòng EOF và linh độ của chất tan.

Nói chung, sự tăng điện thế sẽ làm tăng hiệu lực tách và độ phân giải đến điểm mà nhiệt Jun không phát tán được. Độ phân giải tối đa có thể đạt được bằng cách duy trì điện thế ở dưới mức xảy ra sự phát nhiệt Jun và sự khuếch tán trở thành yếu tố giới hạn.

Ảnh hưởng của lực ion

Kiểm soát lực ion cho phép điều chỉnh độ phân giải, hiệu lực tách và độ nhạy. Tăng lực ion nói chung sẽ cải thiện độ phân giải, hiệu lực tách, và hình dạng pic. Độ nhạy có thể được cải thiện do có sự tụ hợp tốt hơn. Tuy nhiên, bởi vì dòng điện sinh ra tỷ lệ thuận với nồng độ đệm, nhiệt sinh ra nhiều hơn khi lực ion của đệm tăng, do đó cần hạn chế tăng lực ion.

Ảnh hưởng của pH

Độ phân giải, độ nhạy và hình dạng pic có thể thay đổi một cách rõ rệt khi có sự thay đổi pH vì thông số này ảnh hưởng đến mức ion hóa của chất tan và dòng EOF. Dòng EOF cao ở pH cao và thấp ở pH thấp đối với cột mao quản bằng silica nung chảy không có lớp bao mặt trong.

Các thông số vận hành

Các bước cơ bản trong quá trình vận hành hệ thống CE là thiết lập hệ thống, quy trình rửa cột mao quản, chuẩn bị mẫu, thử tính phù hợp hệ thống, phân tích mẫu, xử lý dữ liệu và tắt hệ thống.

Thiết lập hệ thống

Cần quan tâm đến khả năng tách, độ phân giải, lực ion của dung dịch đệm và ảnh hưởng pH để chọn cột có kích thước và lớp bao bề mặt cho phù hợp. Điều chế dung dịch đệm có thành phần, lực ion và pH thích hợp, loại khí nếu cần thiết và lọc qua lọc thích hợp. Tất cả dung môi, bao gồm cả nước cần dùng loại tinh khiết dùng cho sắc ký lỏng hay CE.

Quy trình rửa mao quản

Sự ổn định về thời gian di chuyển và độ phân giải có thể thu được nếu tuân theo quy trình rửa cột mao quản nhất định. Quy trình rửa và cân bằng mao quản phải phù hợp với các chất phân tích, các nền mẫu (matrix) và phương pháp phân tích. Bởi vậy, những quy trình này được xây dựng như là một phần của phương pháp và được quy định trong từng chuyên luận riêng. Rửa cột có thể dùng *dung dịch acid phosphoric 0,1 M*, nước và *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*. Trước khi bắt đầu quá trình phân tích mẫu, cột mao quản có thể được rửa với năm lần thể tích cột bằng dung dịch đệm làm việc dùng cho quá trình phân tích. Khi thay đổi thành phần đệm, nên rửa cột mao quản với năm lần thể tích cột bằng dung dịch đệm làm việc mới để làm sạch đệm của lần phân tích trước. Khi sử dụng cột mao quản mới bằng silica nung chảy không có lớp bao, thông thường yêu cầu phải hoạt hóa các nhóm silanol trên bề mặt mao quản. Quá trình này bao gồm việc tráng rửa kỹ với *dung dịch natri hydroxyd*. Đối với các loại mao quản có lớp bao bên trong, quy trình rửa cột cần theo sự hướng dẫn của nhà sản xuất vì rửa cột không đúng cách có thể làm phá hủy lớp bao bên trong cột. Cột có thể được chỉ định chuyên dùng cho

những loại đệm hay cho những phương pháp phân tích cụ thể để đề phòng nhiễm chéo.

Tiến hành phân tích mẫu

Để có được độ phân giải, độ nhạy và sự tách tốt với pic có hình dạng đẹp cần phải lựa chọn cột mao quản, chất điện giải và qui trình tiêm mẫu phù hợp. Khi cần thì sử dụng nội chuẩn để có được độ chính xác khi tiêm mẫu. Khi lựa chọn nội chuẩn cần quan tâm đến khả năng tách khỏi chất cần phân tích. Sự hoàn hảo của hệ thống có thể được cải thiện bằng cách rửa mao quản giữa các lần tiêm và cung cấp đệm mới cho hai lọ đệm dùng áp đặt thể trong quá trình tách (lọ 2 và 4 trong Hình 5.7). Có thể tiêm lặp lại từ cùng lọ mẫu thử miễn là tránh được sự nhiễm chéo. Nếu có sự nhiễm chéo xảy ra, nên rửa đầu mao quản nơi tiêm mẫu bằng cách nhúng nhanh nó vào trong một lọ có chứa đệm trước khi nhúng vào trong lọ chứa mẫu hay lọ chứa chất điện giải.

Các thông số vận hành được quy định cụ thể trong từng chuyên luận nhằm làm giảm ảnh hưởng của điện thế, lực ion và pH. Thiết bị được lắp đặt để phân tích mẫu với cột mao quản và điều kiện tiêm mẫu phù hợp nằm trong khoảng tuyến tính động học của detector. Sự chính xác về độ di chuyển có thể đạt được bằng cách chọn chất pha loãng mẫu, chất điện giải và điều kiện xử lý cột mao quản phù hợp. Khi tiến hành phân tích chú ý tránh hiện tượng đưa lượng mẫu quá tải vào cột vì điều này sẽ làm giảm hiệu lực và độ tái lập.

Tính phù hợp của hệ thống

Các thông số được đo đặc có thể bao gồm độ lặp của bộ phận tiêm mẫu, độ chọn lọc và hiệu lực của hệ thống, và sự đối xứng của pic. Độ phân giải giữa các chất phân tích và các chất khác có thể được xác định bằng cách sử dụng các chất chuẩn hỗn hợp.

Các thông số tiêu biểu dùng để xác định tính phù hợp hệ thống bao gồm độ lệch chuẩn tương đối (RSD), hệ số dung lượng (k'), số đĩa lý thuyết (N), độ nhạy (giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng), số đĩa lý thuyết tính trên 1 mét (n), hệ số đối xứng (T) và độ phân giải (R).

Hình dạng pic được kiểm tra chặt chẽ, pic lý tưởng phải đối xứng, không có vai và không kéo đuôi. Nếu những điều kiện này không đạt, cần phải tiến hành điều chỉnh trước khi tiến hành phân tích. Việc tích phân pic cũng phải được kiểm tra chặt chẽ để đảm bảo tín hiệu đáp ứng của pic được định lượng chính xác.

Tiêm lặp lại dung dịch chuẩn với nồng độ biết trước để xác định độ tái lập của hệ thống CE. Dữ liệu tiêm lặp lại từ 5 lần hoặc nhiều hơn được sử dụng để tính toán RSD. Trừ khi có qui định trong chuyên luận riêng, độ lệch chuẩn tương đối cho sự tiêm lặp lại không được quá 3,0 %. Giá trị của độ chính xác nhỏ nhất có thể được qui định riêng trong phương pháp

CE, đặc biệt khi xác định các thành phần dạng vết. Việc tính toán các thông số điện di trong MEKC, cũng như các phương pháp khác của CE có thể cần đến sự kết hợp các mối quan hệ giữa sắc ký và điện di. Vì vậy, hệ số dung lượng (k') cho sự di chuyển của chất trung tính trong MEKC có thể tính bằng phương trình:

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0 \times (1 - \frac{t_R}{t_{MC}})}$$

Trong đó t_R , t_0 , và t_{MC} lần lượt là thời gian di chuyển của chất cần phân tích, của dung dịch (EOF) và của mixen.

Số đĩa lý thuyết (N), là thước đo hiệu lực của hệ thống và được tính bằng phương trình:

$$N = 16(t_R/W)^2 \text{ hay } N = 5,54(t_R/W_{1/2})^2$$

Trong đó W là độ rộng pic của chất cần phân tích đo được ở đường nền, $W_{1/2}$ là độ rộng pic của chất cần phân tích đo được ở phân nửa chiều cao của pic và t_R là thời gian di chuyển của chất phân tích.

Số đĩa lý thuyết tính trên mét (n) là thước đo hiệu lực của cột mao quản được xem như là hàm số về độ rộng pic ở đường nền và có thể tính toán bằng công thức:

$$n = 1600(t_R/W)^2/L$$

Trong đó L tính bằng cm là chiều dài tổng cộng của mao quản, các ký hiệu khác được định nghĩa như trên. Hệ số đối xứng pic (T) của chất cần phân tích là thước đo sự đối xứng của pic, nó thể hiện độ lệch của pic so với pic đối xứng lý tưởng. Hệ số này được tính bằng phương trình:

$$T = W_{0,05}/2f$$

Trong đó $W_{0,05}$ là chiều rộng pic đo ở 5 % chiều cao của pic tính từ đường nền, f là chiều rộng nửa bên trái của pic đo ở 5 % chiều cao pic tính từ đường nền. Hệ số 1,0 chỉ rằng pic là đối xứng. Nếu các hiệu ứng phân tán điện di xảy ra, thì chúng có thể tạo ra pic không đối xứng. Điều này có thể xảy ra khi dùng nồng độ mẫu thử cao như trong phân tích tạp chất. Trường hợp pic bất đối xứng cũng có thể chấp nhận được miễn là đạt được độ lặp và chúng không ảnh hưởng đến độ chọn lọc về tách.

Hệ số phân giải (R) đo khả năng của hệ thống CE tách các chất cần phân tích di chuyển kế tiếp nhau. Độ phân giải được xác định cho tất cả các chất cần phân tích, với pH của đệm được điều chỉnh nếu cần thiết để đáp ứng các yêu cầu về tính phù hợp hệ thống. Nó có thể được tính bằng phương trình:

$$R = 2(t_2 - t_1)/(W_1 + W_2)$$

Trong đó t_2 và t_1 lần lượt là thời gian di chuyển (đo được ở cực đại của pic) của pic đi sau và pic trước. W_2 và W_1 lần lượt là chiều rộng của hai pic đo được ở đường nền.

Phân tích mẫu

Sau khi xác định tính phù hợp hệ thống, có thể tiêm dung dịch mẫu thử và mẫu chuẩn. Mẫu chuẩn có thể tiêm trước hay sau mẫu thử và tiêm xen kẽ trong suốt quá trình phân tích.

Xử lý dữ liệu

Diện tích pic được chuẩn hóa theo thời gian thường được sử dụng trong định lượng. Các dữ liệu được xác định bằng cách chia diện tích pic đã tích phân được cho thời gian di chuyển của chất phân tích. Điều này làm giảm sai số do trong CE, không giống như trong sắc ký lỏng, mỗi chất cần phân tích di chuyển qua detector với một tốc độ khác nhau. Trừ khi sự chuẩn hóa này được thực hiện, những chất di chuyển chậm hơn sẽ có diện tích lớn bất thường so với diện tích của những thành phần di chuyển nhanh.

Tắt hệ thống

Sau khi phân tích, cột mao quản được rửa theo sự hướng dẫn được quy định riêng trong từng chuyên luận hay theo khuyến cáo của nhà sản xuất. Ví dụ: Cột mao quản có thể được rửa bằng nước cất để loại các thành phần đệm và sau đó được nạp không khí hoặc khí nitrogen lấy từ lọ rồng. Thông thường, lọ đích và lọ nguồn (lọ 4 và lọ 2 trong hình 5.7) là các lọ được bỏ dung dịch đệm đi và được tráng kỹ bằng nước khử khoáng.

PHỤ LỤC 6

6.1 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ KHÚC XẠ

Chỉ số khúc xạ (n) của một chất so với không khí là tỷ lệ giữa sin của góc tới và sin của góc khúc xạ của chùm tia sáng truyền từ không khí vào chất đó.

Chỉ số khúc xạ thay đổi theo bước sóng ánh sáng được dùng để đo và nhiệt độ. Chỉ số khúc xạ có giá trị để định tính và đánh giá sơ bộ mức độ tinh khiết của mẫu đo.

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, chỉ số khúc xạ được đo ở $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ với tia sáng có bước sóng tương ứng với vạch D của natri (589,3 nm), ký hiệu n_D^{20} .

Máy

Khúc xạ kế dùng để xác định góc tới hạn của môi trường. Khi đo, phần chủ yếu của lăng kính có chỉ số khúc xạ biết trước đặt tiếp xúc với môi trường được khảo sát.

Hầu hết khúc xạ kế được thiết kế để sử dụng nguồn sáng trắng, khi sử dụng nguồn sáng trắng, khúc xạ kế được trang bị hệ thống bộ chính và được hiệu chuẩn lại để cho kết quả đọc tương ứng với vạch D của đèn natri.

Thang đo chỉ số khúc xạ phải đọc được các giá trị với ít nhất 3 số lẻ thập phân.

Nhiệt kế chia độ tới $0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ hoặc nhỏ hơn.

Để đạt được độ chính xác, cần thiết phải hiệu chuẩn lại máy với các chất chuẩn do nhà sản xuất cung cấp hay bằng cách xác định chỉ số khúc xạ của nước cất tại $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ là 1,3325 và tại $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ là 1,3330.

6.2 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ pH

pH là một số biểu thị quy ước nồng độ ion hydrogen của dung dịch nước. Trong thực hành, định nghĩa trên là một định nghĩa thực nghiệm. pH của một dung dịch liên quan với pH của một dung dịch đối chiếu theo biểu thức sau:

$$\text{pH} = \text{pH}_s - \left[\frac{(E - E_s)}{k} \right]$$

Trong đó:

E là điện thế, tính bằng von, của pin chứa dung dịch được khảo sát;

E_s là điện thế, tính bằng von, của pin chứa dung dịch đã biết pH (dung dịch đối chiếu);

pH_s là pH của dung dịch đối chiếu;

k là hệ số có giá trị thay đổi theo nhiệt độ ghi ở Bảng 6.2.1.

Bảng 6.2.1- Giá trị của k ở các nhiệt độ khác nhau

Nhiệt độ ($^{\circ}\text{C}$)	k (V)
15	0,0572
20	0,0582
25	0,0592
30	0,0601
35	0,0611

Máy

Trị số pH của một dung dịch được xác định bằng cách đo thế hiệu giữa điện cực chỉ thị nhạy cảm với ion hydrogen (thường là điện cực thủy tinh) và một điện cực so sánh (thí dụ điện cực calomel bão hòa).

Máy đo là một điện thế kế có trở kháng đầu vào gấp ít nhất 100 lần trở kháng của các điện cực sử dụng. Nó thường được phân độ theo đơn vị pH và có độ nhạy đủ để phát hiện được những thay đổi cỡ 0,05 đơn vị pH hoặc ít nhất 0,003 V. Các điện cực thủy tinh phù hợp và các kiểu máy đo pH kể cả máy đo pH hiện số đều phải đáp ứng yêu cầu trên.

Vận hành máy đo pH và hệ thống điện cực theo sự chỉ dẫn của hãng sản xuất.

Tất cả các phép đo đều cần phải tiến hành trong cùng một điều kiện nhiệt độ khoảng từ $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, trừ những trường hợp có quy định khác trong chuyên luận riêng.

Hiệu chuẩn máy: Dùng dung dịch đệm chuẩn D ghi trong Bảng 6.2.2. là chuẩn thứ nhất, đo và chỉnh máy để đọc được trị số pH của chuẩn ghi ở bảng tương ứng với nhiệt độ của dung dịch.

Dùng một dung dịch đệm chuẩn thứ hai (chọn một trong các dung dịch quy định ghi ở Bảng 6.2.2) để chỉnh thang đo.

Trị số pH đo được của dung dịch đệm chuẩn thứ ba, dung dịch có trị số pH nằm giữa trị số pH của đệm chuẩn thứ nhất và thứ hai, phải không được sai khác nhiều hơn 0,05 đơn vị pH so với trị số pH tương ứng ghi trong Bảng 6.2.2.

Phương pháp đo

Nhúng các điện cực vào trong dung dịch cần khảo sát và đo trị số pH ở cùng nhiệt độ đo của các dung dịch đệm chuẩn khi hiệu chuẩn máy.

Khi máy được dùng thường xuyên, việc kiểm tra thang đo pH phải được thực hiện định kỳ. Nếu máy không thường xuyên dùng, việc kiểm tra cần thực hiện trước mỗi phép đo.

Tất cả các dung dịch và dịch treo của chế phẩm khảo sát và các dung dịch đệm chuẩn phải được pha chế với nước không có carbon dioxyl (TT).

Khi đo các dung dịch có pH trên 10,0 phải đảm bảo rằng điện cực thủy tinh đang dùng là phù hợp, chịu được các điều kiện kiềm và cần áp dụng hệ số điều chỉnh trong phép đo.

Sau cùng đo lại trị số pH của dung dịch đệm chuẩn dùng để hiệu chuẩn máy và điện cực. Nếu sự khác nhau giữa lần đọc này và trị số gốc của dung dịch đệm chuẩn ấy lớn hơn 0,05 thì các phép đo phải làm lại.

Các dung dịch đệm chuẩn

Dung dịch đệm A: Hòa tan 12,61 g kali tetraoxalat (TT) trong nước không có carbon dioxyd (TT) vừa đủ để có 1000 ml dung dịch (0,05 M).

Dung dịch đệm B: Lắc kỹ một lượng thừa kali hydro (+)-tartrat (TT) với nước không có carbon dioxyd (TT) ở 25 °C. Lọc hoặc để lắng gạn. Pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch đệm C: Hòa tan 11,41 g kali dihydrocitrat (TT) trong nước không có carbon dioxyd (TT) vừa đủ để có 1000 ml dung dịch (0,05 M). Pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch đệm D: Hòa tan 10,13 g kali hydrophthalat (TT) (đã sấy khô trước ở 110 °C ± 2 °C trong 1 giờ) trong nước không có carbon dioxyd (TT) vừa đủ để có 1000 ml dung dịch (0,05 M).

Dung dịch đệm E: Hòa tan 3,39 g kali dihydrophosphat (TT) và 3,53 g dinatri hydrophosphat khan (TT) (cả hai đã được sấy khô trước ở 120 °C ± 2 °C trong 2 giờ) trong nước không có carbon dioxyd (TT) vừa đủ để có 1000 ml dung dịch (0,025 M cho mỗi muối).

Dung dịch đệm F: Hòa tan 1,18 g kali dihydrophosphat (TT) và 4,30 g dinatri hydrophosphat khan (TT) (cả hai đã được sấy khô trước ở 120 °C ± 2 °C trong 2 giờ) trong nước không có carbon dioxyd (TT) vừa đủ để có 1000 ml dung dịch (0,0087 M và 0,0303 M cho mỗi muối theo thứ tự kể trên).

Dung dịch đệm G: Hòa tan 3,80 g natri tetraborat (TT) trong nước không có carbon dioxyd (TT) vừa đủ để có 1000 ml dung dịch (0,01 M). Bảo quản tránh carbon dioxyd của không khí.

Dung dịch đệm H: Hòa tan 2,64 g natri carbonat khan (TT) và 2,09 g natri hydrocarbonat (TT) trong nước không có carbon dioxyd (TT) vừa đủ để có 1000 ml dung dịch (0,025 M cho mỗi muối).

6.3 XÁC ĐỊNH ĐỘ NHỚT CỦA CHẤT LỎNG

Độ nhớt của chất lỏng là một đặc tính của chất lỏng liên quan chặt chẽ đến lực ma sát nội tại cản lại sự di động tương đối của các lớp phân tử trong lòng chất lỏng đó.

Độ nhớt động lực hay độ nhớt tuyệt đối, ký hiệu là η , là lực tiếp tuyến trên một đơn vị diện tích bề mặt, được biết như một ứng suất trượt τ (biểu thị bằng pascal), cần thiết để di chuyển một lớp chất lỏng 1 m² song song với mặt phẳng trượt ở tốc độ (v) là 1 m/s so với lớp chất lỏng song song ở một khoảng cách (x) là 1 m.

Tỷ lệ dv/dx là gradient vận tốc cho tốc độ trượt D, biểu thị là nghịch đảo của giây (s⁻¹) và $\eta = \tau/D$.

Đơn vị của độ nhớt động lực là pascal giây (Pa.s) hoặc newton giây trên mét vuông (N.s/ m²) và ước số hay dùng là milipascal giây (mPa.s). Ngoài ra người ta còn dùng đơn vị độ nhớt cơ bản là poise (P) và ước số hay dùng là centipoise (cP).

$$1 \text{ Pa.s} = 1000 \text{ mPa.s} = 1 \text{ N s/m}^2$$

$$1 \text{ P} = 0,1 \text{ Pa.s} = 100 \text{ cP} = 100 \text{ mPa.s}$$

Độ nhớt động lực của nước cất ở 20 °C xấp xỉ bằng 1 centipoise.

Độ nhớt động học (ν) là tỷ số giữa độ nhớt động lực và khối lượng riêng (ρ) của chất lỏng (biểu thị bằng kg/m³), cả hai đều được xác định ở cùng nhiệt độ t.

$$\nu = \frac{\eta}{\rho}$$

Đơn vị độ nhớt động học là m²/s, ước số là mm²/s.

Ngoài ra người ta còn dùng đơn vị độ nhớt động học là stocker (St) và ước số hay dùng là centistocker (cSt).

$$1 \text{ St} = 10^{-4} \text{ m}^2/\text{s}$$

$$1 \text{ cSt} = 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s} = 1 \text{ mm}^2/\text{s}$$

Độ nhớt động học của nước cất ở 20 °C xấp xỉ bằng 1 cSt.

Khi tính độ nhớt động học của một chất lỏng theo stocker hay centistocker, đi từ độ nhớt động lực tính theo poise hay centipoise thì khối lượng riêng của chất lỏng đó phải tính theo g/cm³.

Bảng 6.2.2- pH của dung dịch đệm chuẩn ở nhiệt độ khác nhau.

Nhiệt độ	Dung dịch đệm							
t°	A	B	C	D	E	F	G	H
15°	1,67	-	3,80	4,00	6,90	7,45	9,28	10,12
20°	1,68	-	3,79	4,00	6,88	7,43	9,23	10,06
25°	1,68	3,56	3,78	4,01	6,87	7,41	9,18	10,01
30°	1,68	3,55	3,77	4,02	6,85	7,40	9,14	9,97
35°	1,69	3,55	3,76	4,02	6,84	7,39	9,10	9,93
$\Delta\text{pH}/\Delta t$	+ 0,001	- 0,0014	- 0,0022	+ 0,0012	- 0,0028	- 0,0028	- 0,0082	- 0,0096

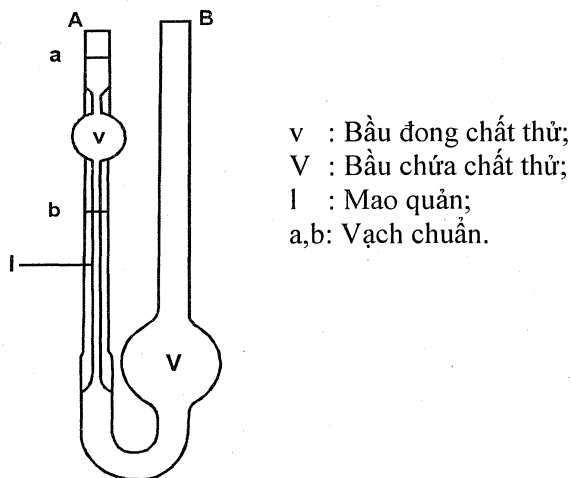
$\Delta\text{pH}/\Delta t$ là độ lệch pH trên 1 °C.

Độ nhớt thay đổi rõ rệt khi nhiệt độ thay đổi. Nhiệt độ tăng thì độ nhớt giảm và ngược lại. Vì vậy, phải xác định độ nhớt của chất lỏng ở nhiệt độ ổn định, dao động không quá $\pm 0,1^\circ\text{C}$.

Phương pháp xác định độ nhớt của chất lỏng

Phương pháp I: Phương pháp đo thời gian chảy của chất lỏng qua ống mao quản

Nhiều nhớt kế mao quản với những kích thước khác nhau, thích hợp cho việc xác định độ nhớt của các chất lỏng khác nhau. Mỗi loại có một hằng số dụng cụ (k) riêng. Trong số những nhớt kế mao quản, nhớt kế Ostwald thường hay được sử dụng nhất (Hình 6.3.1).



Hình 6.3.1 - Nhớt kế Ostwald.

Cách xác định độ nhớt bằng nhớt kế Ostwald

Dùng pipet dài để chuyển qua miệng ống B chất lỏng cần xác định độ nhớt đã được ổn định nhiệt độ ở $20^\circ\text{C} \pm 0,1^\circ\text{C}$ (trừ khi có chỉ dẫn khác) vào bầu chứa V, sao cho không dính hoặc chỉ dính rất ít chất lỏng đem thử vào thành ống B ở phía trên bầu V. Đặt nhớt kế thẳng đứng và chìm hết bầu V trong môi trường điều nhiệt ở nhiệt độ $20^\circ\text{C} \pm 0,1^\circ\text{C}$ (trừ khi có chỉ dẫn khác) trong 30 phút. Sau đó dùng quả bóp cao su (phụ kiện của dụng cụ đo độ nhớt) thổi từ miệng ống B để chất lỏng dâng lên quá ngăn chuẩn a thì ngừng bơm, bỏ quả bóp cao su khỏi miệng ống B để chất lỏng đem thử chảy tự do về bầu V. Ghi thời gian cần thiết để vòng khum dưới của chất lỏng đem thử chuyển dịch từ ngăn a đến ngăn b. Làm như vậy 5 lần, lấy trung bình cộng của các kết quả đo được làm thời gian t cần xác định. Sai số các kết quả đo không vượt quá 0,5 %. Để đỡ mắc sai số lớn, cần chọn nhớt kế thích hợp sao cho thời gian t không được dưới 200 giây.

Tính độ nhớt động lực học η hoặc độ nhớt động học ν lần lượt theo công thức sau:

$$\eta = k \times \rho \times t \quad (1)$$

$$\nu = k \times t \quad (2)$$

Trong đó:

η là độ nhớt động lực (mPa.s hoặc cP) ;

ν là độ nhớt động học (mm^2/s hoặc cSt) ;

k là hằng số dụng cụ đo;

ρ là khối lượng riêng của chất lỏng đem thử (g/cm^3);

t là thời gian chảy (s).

Khi không có giá trị k , có thể tự xác định hằng số k bằng cách dùng một chất lỏng đã biết trước độ nhớt η hoặc ν và tính k theo công thức (1) hoặc (2). Nhớt kế đã bị sửa chữa thì khi sử dụng lại, phải được chuẩn lại. Nếu dùng nhớt kế mao quản với máy đo tự động thì vận hành máy theo quy trình hướng dẫn của hãng sản xuất máy. Thời gian cần thiết để chất lỏng đem thử chuyển dịch từ ngăn a đến ngăn b sẽ được tự động ghi lại.

Phương pháp II: Phương pháp đo thời gian rơi của trái cầu

Phương pháp này thích hợp cho các chất lỏng trong suốt và có độ nhớt cao (từ 8 poise đến 1000 poise).

Dụng cụ: (Hình 6.3.2) Gồm 1 ống thử a, dài 30 cm, đường kính trong là $2\text{ cm} \pm 0,05\text{ cm}$. Trên thành ống có khắc 5 ngăn vòng quanh, mỗi ngăn cách nhau 5 cm. Ống thử a được đặt trong bình điều nhiệt b có chứa nước, phía trên có nắp đậy. Trên nắp có các lỗ để đặt nhiệt kế chia độ đến $0,1^\circ\text{C}$, que khuấy c và phễu g. Trái cầu là những viên bi bằng thép có đường kính 0,15 cm. Viên bi sẽ được thả vào ống thử a qua một ống nhỏ d có đường kính trong là 0,3 cm. Ống d có một lỗ ngang cao hơn mực chất thử trong ống a, đầu dưới của ống d ở ngang ngăn trên cùng của ống a và thấp hơn mặt chất thử 3 cm.

Khi không có dụng cụ như trên có thể dùng các nhớt kế khác có tính năng tương tự, đảm bảo cung cấp giá trị độ nhớt với độ chính xác và độ đúng như những nhớt kế đã mô tả ở trên (ví dụ: Nhớt kế Hoppler).

Phương pháp đo: Đổ chất lỏng cần xác định độ nhớt vào ống thử a sao cho mực chất lỏng cao hơn đầu dưới của ống d 3 cm. Đặt các viên bi vào một ống thử nghiệm nhỏ lồng qua lỗ đặt phễu g. Giữ chất lỏng cần thử và các viên bi trong môi trường điều nhiệt có nhiệt độ ở $20^\circ\text{C} \pm 0,1^\circ\text{C}$ trong 30 phút (trừ khi có chỉ dẫn khác). Sau đó thả từng viên bi vào trong chất lỏng đem thử qua ống d. Ghi thời gian rơi của 5 viên bi từ ngăn thứ hai đến ngăn thứ năm (15 cm). Lấy trung bình cộng của 5 lần đo này làm thời gian t cần xác định.

Tính độ nhớt động lực học η của chất lỏng đem thử theo công thức:

$$\eta = k \times t (\rho_k - \rho)$$

Trong đó:

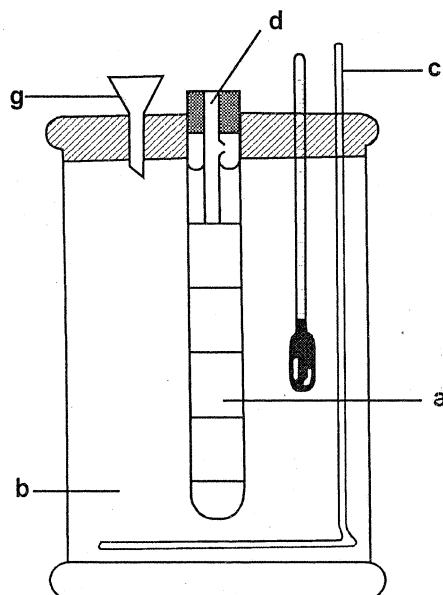
η là độ nhớt động lực (mPa.s hoặc cP);

k là hằng số của viên bi;

ρ_k là khối lượng riêng của viên bi (g/cm^3);

ρ là khối lượng riêng của chất lỏng đem thử (g/cm^3);

t là thời gian rơi của viên bi (s).



Hình 6.3.2 - Dụng cụ đo độ nhớt bằng cách đo thời gian rơi của trái cầu

Phương pháp III

Thiết bị thường dùng là loại nhớt kế quay, dựa trên việc đo lực trượt trong môi trường lỏng được đặt giữa hai ống hình trụ đồng trục, một ống được quay nhờ motor, còn ống kia quay được do sự quay của ống thứ nhất tác động vào. Dưới những điều kiện như vậy, độ nhớt (hay độ nhớt biểu kiến) trở thành phép đo (M) độ lệch của góc đối với ống hình trụ thứ 2, tương ứng với momen lực, biểu thị bằng N.m. Đối với lớp chất lỏng rất mỏng, độ nhớt động lực η , biểu thị bằng Pa.s được tính theo công thức:

$$\eta = \frac{I}{\omega} \left(\frac{M}{4\pi h} \right) \left(\frac{1}{R_A^2} - \frac{1}{R_B^2} \right)$$

Trong đó:

h là độ cao tính bằng m của ống hình trụ thứ 2 được nhúng trong chất lỏng;

R_A và R_B là đường kính tính bằng m của hai ống hình trụ (R_A nhỏ hơn R_B);

ω là vận tốc góc tính bằng rad/s.

Hằng số k của máy được tính ở các tốc độ quay khác nhau bằng cách sử dụng các chất lỏng có độ nhớt chuẩn.

Các máy luôn được cung cấp một bảng có các hằng số liên quan đến diện tích bề mặt của các ống trụ được dùng và tốc độ quay của chúng. Độ nhớt được tính theo công thức:

$$\eta = k(M/\omega)$$

Cách đo: Đo độ nhớt theo sự chỉ dẫn cách vận hành nhớt kế quay. Nhiệt độ đo được chỉ dẫn trong chuyên

luận. Nếu không thể đặt được tốc độ trượt chính xác như chỉ dẫn thì đặt tốc độ trượt cao hơn một chút và thấp hơn một chút sau đó dùng phương pháp nội suy để tính độ nhớt.

6.4 XÁC ĐỊNH GÓC QUAY CỰC VÀ GÓC QUAY CỰC RIÊNG

Góc quay cực của một chất là góc của mặt phẳng phân cực bị quay đi khi ánh sáng phân cực đi qua chất đó nếu là chất lỏng, hoặc qua dung dịch chất đó nếu là chất rắn.

Chất làm quay mặt phẳng phân cực theo cùng chiều kim đồng hồ được gọi là chất hữu tuyến, ký hiệu là (+). Chất làm quay mặt phẳng phân cực ngược chiều kim đồng hồ được gọi là chất tả tuyến, ký hiệu là (-).

Nếu không có hướng dẫn riêng, góc quay cực α được xác định ở nhiệt độ 20 °C và với chùm tia đơn sắc có bước sóng ứng với vạch D (589,3 nm) của đèn natri qua lớp chất lỏng hay dung dịch có bề dày 1 dm.

Góc quay cực riêng $[\alpha]_D^{20}$, của một chất lỏng là góc quay cực đo được khi chùm ánh sáng D truyền qua lớp chất lỏng đó có bề dày là 1 dm ở 20 °C chia cho tỷ trọng tương đối của chất ở cùng nhiệt độ.

Góc quay cực riêng $[\alpha]_D^{20}$, của một chất rắn là góc quay cực đo được khi chùm ánh sáng D truyền qua lớp dung dịch có bề dày là 1 dm và có nồng độ là 1 g/ml, ở 20 °C. Góc quay cực riêng của chất rắn luôn được biểu thị cùng với dung môi và nồng độ dung dịch đo.

Phân cực kế

Các phân cực kế thường dùng nguồn sáng là đèn hơi natri hay hơi thủy ngân. Trong một số trường hợp cần thiết phải sử dụng phân cực kế quang điện cho phép đo ở các bước sóng riêng biệt. Phân cực kế phải cho phép đọc chính xác tới gần 0,01°. Thang đo phải thường xuyên được kiểm định bằng các bản thạch anh chuẩn. Độ tuyến tính của thang đo phải được kiểm tra bằng các dung dịch sucrose.

Cách tiến hành

Xác định góc quay cực của chất thử ở nhiệt độ 19,5 °C đến 20,5 °C, nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận riêng dùng tia D của ánh sáng đèn natri phân cực. Có thể đo ở nhiệt độ khác nếu chuyên luận riêng chỉ ra cách hiệu chỉnh nhiệt độ cho góc quay cực đo được. Tiến hành đo ít nhất 5 lần và lấy giá trị trung bình. Xác định điểm "0" của phân cực kế với ống đo rỗng khi đo chất lỏng và với ống đo chứa đầy dung môi khi đo dung dịch chất rắn.

Tính góc quay cực riêng theo các biểu thức sau:

Cho chất lỏng:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l \times d}$$

Cho chất rắn:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l \times c} \times 1000$$

Trong đó:

α là góc quay cực đo được;

l là chiều dài ống đo của phân cực kế, tính bằng dm;

d là tỷ trọng tương đối của chất lỏng;

c là nồng độ của chất thử (rắn) trong dung dịch (g/l);

Căn cứ vào góc quay cực đo được, có thể tính nồng độ g/l của chất thử trong dung dịch theo biểu thức:

$$c \text{ (g/l)} = \frac{\alpha}{l \times [\alpha]_D^{20}} \times 1000$$

hoặc nồng độ % (kl/kl) của chất thử trong dung dịch theo biểu thức:

$$c \text{ (% kl/kl)} = \frac{\alpha}{l \times \rho_{20} \times [\alpha]_D^{20}} \times 100$$

Trong đó:

ρ_{20} là khối lượng riêng (g/cm³) của dung dịch ở 20 °C.

6.5 XÁC ĐỊNH KHỐI LƯỢNG RIÊNG VÀ TỶ TRỌNG

Khối lượng riêng

Khối lượng riêng của một chất ở nhiệt độ t (ρ_t) là khối lượng một đơn vị thể tích của chất đó, xác định ở nhiệt độ t :

$$\rho_t = \frac{M}{V}$$

Trong đó:

M là khối lượng của chất, xác định ở nhiệt độ t ;

V là thể tích chất, xác định ở nhiệt độ t .

Trong hệ đơn vị quốc tế SI, đơn vị của khối lượng riêng là kg/m³. Trong ngành dược thường xác định khối lượng riêng ở nhiệt độ 20 °C (ρ_{20}) có tính đến ảnh hưởng của sức đẩy của không khí (tức là quy về giá trị xác định trong chân không) và dùng đơn vị kg/l hoặc g/ml.

Tỷ trọng tương đối

Tỷ trọng tương đối d_{20}^{20} của một chất là tỷ số giữa khối lượng của một thể tích cho trước của chất đó, và khối lượng của cùng thể tích nước cất, tất cả đều cân ở 20 °C.

Tỷ trọng biểu kiến

Đại lượng “tỷ trọng biểu kiến” được dùng trong các chuyên luận ethanol, ethanol 96 % và loãng hơn..., là khối lượng cân trong không khí của một đơn vị thể tích chất lỏng. Tỷ trọng biểu kiến được biểu thị bằng đơn vị kg/m³ và được tính toán theo biểu thức sau đây:

$$\text{Tỷ trọng biểu kiến} = 997,2 \times d_{20}^{20}$$

Trong đó:

d_{20}^{20} là tỷ trọng tương đối của chất thử.

997,2 là khối lượng cân trong không khí của 1 m³ nước, tính bằng kg.

Xác định tỷ trọng tương đối d_{20}^{20} của một chất lỏng

Xác định tỷ trọng của một chất lỏng theo phương pháp được chỉ rõ trong chuyên luận. Nếu chuyên luận không chỉ rõ dùng phương pháp nào để xác định tỷ trọng một chất lỏng, có thể dùng một trong các phương pháp sau đây:

Phương pháp dùng picnomet: Cân chính xác picnomet rỗng, khô và sạch. Đổ vào picnomet mẫu thử đã điều chỉnh nhiệt độ thấp hơn 20 °C, chú ý không để có bọt khí. Giữ picnomet ở nhiệt độ 20 °C trong khoảng 30 phút. Dùng một băng giấy lọc để thấm hết chất lỏng thừa trên vạch mức, làm khô mặt ngoài của picnomet, cân rồi tính khối lượng chất lỏng chứa trong picnomet. Tiếp đó đổ mẫu thử đi, rửa sạch picnomet, làm khô bằng cách tráng ethanol rồi tráng acetone, thổi không khí nén hoặc không khí nóng đuổi hết hơi acetone, sau đó xác định khối lượng nước cất chứa trong picnomet ở nhiệt độ 20 °C như làm với mẫu thử. Tỷ số giữa khối lượng mẫu thử và khối lượng nước cất thu được là tỷ trọng d_{20}^{20} cần xác định.

Phương pháp này cho kết quả với 4 chữ số lẻ thập phân.

Phương pháp dùng cân thủy tĩnh Mohr-Westphal:

Đặt cân trên mặt phẳng nằm ngang. Mắc phao vào đòn cân, đặt phao chìm trong nước cất ở nhiệt độ 20 °C và chỉnh thăng bằng bằng các con mã đặt ở các vị trí thích hợp, thu được giá trị M . Lấy phao ra, thấm khô rồi đặt lại phao chìm trong chất lỏng cần xác định tỷ trọng, ở cùng nhiệt độ 20 °C, chú ý sao cho phần dây treo chìm trong chất lỏng một đoạn bằng đoạn đã chìm trong nước cất. Chỉnh lại thăng bằng bằng các con mã đặt ở vị trí thích hợp, thu được giá trị M_1 . Tỷ số M_1/M là tỷ trọng d_{20}^{20} cần xác định.

Phương pháp này cho kết quả với 3 chữ số lẻ thập phân.

Phương pháp dùng tỷ trọng kế: Lau sạch tỷ trọng kế bằng ethanol hoặc ether. Dùng đũa thủy tinh trộn đều chất lỏng cần xác định tỷ trọng. Đặt nhẹ nhàng tỷ trọng kế vào chất lỏng đó sao cho tỷ trọng kế không chạm vào thành và đáy của dụng cụ đựng chất thử. Chỉnh nhiệt độ tới 20 °C và khi tỷ trọng kế ổn định, đọc kết quả theo vòng khum dưới của mức chất lỏng.

Đối với chất lỏng không trong suốt, đọc theo vòng khum trên.
Phương pháp này cho kết quả với 2 hoặc 3 chữ số lẻ thập phân.

Xác định tỷ trọng d_{20}^{20} của mỡ, sáp, nhựa, nhựa thơm

Dùng picnomet: Đầu tiên cân chính xác picnomet rỗng (M_1) rồi cân picnomet đổ đầy nước cất ở 20 °C (M_4). Sau đó đổ nước đi, làm khô picnomet, dùng ống hút hoặc phễu cuống nhỏ, cho vào trong picnomet mẫu thử đã được đun chảy khoảng 1/3 đến 1/2 thể tích của picnomet. Để 1 giờ trong nước nóng, không đập nút. Làm nguội đến 20 °C, đập nút. Lau khô mặt ngoài picnomet rồi lại cân (M_2). Cuối cùng thêm nước cất đến vạch, lau khô mặt ngoài picnomet rồi lại cân (M_3). Chú ý không được để bọt khí còn lại giữa lớp nước và mẫu thử.

Tính kết quả theo công thức:

$$d_{20}^{20} = \frac{M_2 - M_1}{(M_4 + M_2) - (M_1 + M_3)}$$

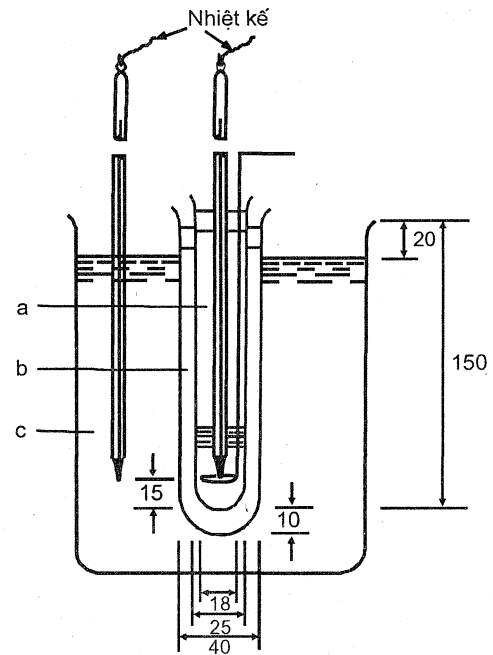
6.6 XÁC ĐỊNH NHIỆT ĐỘ ĐÔNG ĐẶC

Nhiệt độ đông đặc là nhiệt độ cao nhất giữ nguyên không đổi trong quá trình chuyển từ trạng thái lỏng sang trạng thái rắn.

Dụng cụ

Một ống nghiệm (a) 150 mm × 25 mm đặt vào bên trong một ống nghiệm lớn (b) khoảng 160 mm × 40 mm. Hai ống nghiệm không chạm vào nhau và cách nhau một lớp không khí. Ống nghiệm bên trong được đặt bằng một nút có mang một que khuấy và một nhiệt kế (dài khoảng 175 mm, chia độ tới 0,2 °C), được cố định sao cho bầu nhiệt kế cách đáy ống khoảng 15 mm. Que khuấy được làm bằng một đũa thủy tinh hoặc bằng thép, đầu dưới uốn thành một vòng tròn có đường kính khoảng 18 mm, vuông góc với que khuấy.

Ống nghiệm (a) và ống bọc nó (b) được giữ ở giữa một cốc hình vại (c) có dung tích 1 lít, chứa một chất lỏng làm lạnh thích hợp. Mức chất lỏng làm lạnh cách miệng ống khoảng 20 mm. Một nhiệt kế hỗ trợ được giữ trong chất lỏng làm lạnh.



Hình 6.6. Dụng cụ xác định nhiệt độ đông đặc (kích thước tính bằng mm)

Cách tiến hành

Lấy một lượng chế phẩm (đã được làm nóng chảy nếu cần thiết), cho vào ống nghiệm (a) của dụng cụ sao cho bầu thủy ngân của nhiệt kế ngập trong lớp chế phẩm và xác định sơ bộ khoảng nhiệt độ đông đặc bằng cách làm lạnh nhanh. Đặt ống nghiệm (a) đã chứa chế phẩm vào trong một bể cách thủy có nhiệt độ trên nhiệt độ đông đặc dự kiến khoảng 5 °C cho đến khi các tinh thể chế phẩm chảy hoàn toàn. Làm đầy cốc (c) bằng nước hoặc dung dịch bão hòa natri clorid ở nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ đông đặc dự kiến khoảng 5 °C. Lồng ống nghiệm (a) vào ống nghiệm (b) và đặt vào cốc (c). Khuấy liên tục, nhẹ nhàng và cứ 30 giây lại đọc nhiệt độ trên nhiệt kế một lần. Lúc đầu nhiệt độ hạ thấp dần, rồi giữ nguyên một thời gian hoặc tăng một chút, rồi giữ nguyên không đổi trong suốt thời gian đông.

Để tránh hiện tượng chậm đông, khi gần đến điểm đông, có thể cho vào ống nghiệm một tinh thể nhỏ chế phẩm đã có sẵn, hoặc cọ nhẹ thành trong của ống nghiệm.

6.7 XÁC ĐỊNH NHIỆT ĐỘ NÓNG CHẢY, KHOẢNG NÓNG CHẢY VÀ ĐIỂM NHỎ GIỌT

Khoảng nóng chảy (gọi tắt là khoảng chảy) của một chất là khoảng nhiệt độ đã hiệu chỉnh, kể từ khi chất rắn bắt đầu nóng chảy và xuất hiện những giọt chất lỏng đầu tiên, đến khi chất rắn chuyển hoàn toàn sang trạng thái lỏng.

Nhiệt độ nóng chảy (gọi tắt là điểm chảy) của một chất là nhiệt độ đã hiệu chỉnh, tại đó hạt chất rắn cuối cùng của chất thử nghiệm chuyển thành trạng thái lỏng, bắt đầu biến màu, hoá than hoặc sủi bọt.

Khi phải xác định khoảng chảy, nếu nhiệt độ bắt đầu hoặc nhiệt độ kết thúc nóng chảy không xác định rõ ràng, ta có thể chỉ xác định nhiệt độ kết thúc, hoặc nhiệt độ bắt đầu nóng chảy. Nhiệt độ này phải nằm trong giới hạn quy định trong chuyên luận riêng của chế phẩm.

Để xác định khoảng chảy và điểm chảy, tùy theo tính chất lý học của từng chất, áp dụng một trong các phương pháp 1, 2 hay 3, còn để xác định điểm nhỏ giọt thì sử dụng phương pháp 4.

Phương pháp 1

(Áp dụng cho các chất rắn dễ nghiền nhỏ).

Dụng cụ

Một bình thủy tinh chịu nhiệt, trong bình chứa một chất lỏng thích hợp, thường dùng là dầu parafin, hoặc để xác định ở nhiệt độ cao dùng dầu silicon, lượng chất lỏng đủ để nhúng chìm được nhiệt kế và mẫu thử sao cho bầu thủy ngân cách đáy bình 2 cm.

Một dụng cụ khuấy có khả năng duy trì sự đồng nhất về nhiệt độ trong chất lỏng.

Một nhiệt kế đã được hiệu chuẩn và chia độ đến 0,5 °C, có khoảng nhiệt độ đo từ thấp nhất đến cao nhất không được quá 100 °C.

Ống mao quản, hàn kín một đầu, dài 6 cm đến 8 cm, đường kính trong 1,0 mm ± 0,1 mm, thành ống dày khoảng 0,10 mm đến 0,15 mm.

Nguồn nhiệt, có thể điều chỉnh được.

Dụng cụ có thể được hiệu chuẩn với các chất chuẩn có điểm chảy được chứng nhận của Tổ chức Y tế Thế giới hay những chất thích hợp khác.

Cách xác định

Nghiền thành bột mịn chất thử đã làm khô 24 giờ ở áp suất 1,5 kPa đến 2,5 kPa trong bình với chất hút ẩm thích hợp, hoặc sấy khô 2 giờ ở 100 °C đến 105 °C, trừ trường hợp có chỉ dẫn riêng trong chuyên luận.

Cho bột vào ống mao quản, lèn bột bằng cách gõ nhẹ ống mao quản xuống mặt phẳng cứng để có một lớp chế phẩm cao 4 mm đến 6 mm.

Đun nóng bình đựng chất lỏng đến khi nhiệt độ thấp hơn điểm chảy dự kiến của chất thử khoảng 10 °C, điều chỉnh nhiệt độ sao cho nhiệt độ tăng 1 °C trong 1 phút (trừ trường hợp có chỉ dẫn trong chuyên luận riêng), hoặc cho nhiệt độ tăng 3 °C trong 1 phút khi thử các chất không bền vì nhiệt.

Khi nhiệt độ đạt thấp hơn điểm chảy dự kiến khoảng 5 °C, lấy nhiệt kế ra, nhanh chóng buộc ống mao quản có chế phẩm vào nhiệt kế, sao cho lớp chế phẩm ngang với phần giữa bầu thủy ngân của nhiệt kế. Đặt lại nhiệt kế vào bình.

Nhiệt độ mà tại đó nhìn thấy cột chất thử sụp xuống, so sánh với một điểm nào đó trên thành ống, được xác định là điểm bắt đầu nóng chảy và nhiệt độ mà tại đó chất thử trở thành chất lỏng hoàn toàn, được xác định là điểm cuối của sự chảy hay điểm chảy.

Hiệu chỉnh nhiệt độ quan sát được nếu nhiệt kế đo có sai số với nhiệt kế chuẩn và sự khác biệt nếu có giữa nhiệt độ của đoạn cột thủy ngân ở ngoài chất lỏng trong điều kiện thí nghiệm và của đoạn cột thủy ngân ngoài chất lỏng trong điều kiện hiệu chuẩn. Nhiệt độ của đoạn cột thủy ngân ở ngoài chất lỏng được xác định bằng cách đặt bầu thủy ngân của nhiệt kế phụ ở điểm giữa của phần cột thủy ngân lộ ra ngoài chất lỏng của nhiệt kế chính.

Tính nhiệt độ đã hiệu chỉnh theo công thức sau:

$$T \text{ hiệu chỉnh} = T + 0,00016N (T_s - t)$$

Trong đó:

T là nhiệt độ đọc trên nhiệt kế chính;

T_s là nhiệt độ trung bình của đoạn cột thủy ngân ở ngoài chất lỏng của nhiệt kế chính trong điều kiện chuẩn hoá;

t là nhiệt độ của đoạn cột thủy ngân ở ngoài chất lỏng đọc trên nhiệt kế phụ tại điểm chảy;

N là số khoảng chia độ (°C) của đoạn cột thủy ngân của nhiệt kế chính ở ngoài chất lỏng.

Phương pháp 2

(Áp dụng cho các chất không nghiền thành bột được như mỡ, sáp, acid béo, parafin rắn, lanolin và chất tương tự, không tan trong nước):

Dụng cụ

Dùng dụng cụ như phương pháp 1, riêng ống mao quản hơ hai đầu, dài 80 mm đến 100 mm, đường kính trong 0,8 mm đến 1,2 mm, thành dày 0,1 mm đến 0,3 mm.

Cách xác định

Cẩn thận làm chảy chất thử ở nhiệt độ thấp tối thiểu. Cắm ống mao quản vào chất thử sao cho lấy được một cột chất thử cao 10 mm không có bọt. Dùng khăn sạch lau sạch phía ngoài mao quản, để nguội ở 10 °C hay thấp hơn trong 24 giờ, hoặc để tiếp xúc với nước đá ít nhất 2 giờ.

Đổ nước cất vào cốc thủy tinh đến chiều cao 6 cm. Treo nhiệt kế vào giá và nhúng vào chính giữa cốc nước. Đun nóng cốc nước đến nhiệt độ thấp hơn điểm chảy dự kiến 10 °C, lấy nhiệt kế ra, nhanh chóng buộc mao quản vào nhiệt kế bằng phương tiện thích hợp sao cho cột chất thử ngang với phần giữa bầu thủy ngân của nhiệt kế, điều chỉnh nhiệt kế để đầu dưới của ống mao quản cách đáy cốc 1 cm. Điều chỉnh tốc độ gia nhiệt không quá 1 °C trong một phút. Trong lúc đó luôn khuấy nước nhẹ nhàng và quan sát cột chất thử, khi cột chất thử bắt đầu dâng lên trong ống mao quản

thì đọc nhiệt độ. Kết quả đọc giữa 2 lần đo liên tiếp không được chênh lệch nhau quá 0,5 °C. Lấy kết quả trung bình. Nhiệt độ này được coi là điểm chảy và phải nằm trong khoảng nóng chảy quy định của chuyên luận.

Phương pháp 3

(Áp dụng cho chất rắn dễ nghiền nhỏ, giống như phương pháp 1).

Dụng cụ

Một khối kim loại (như đồng) không bị ăn mòn bởi chất thử nghiệm, khả năng truyền nhiệt tốt, bề mặt trên được đánh bóng cẩn thận. Khối kim loại này được đun nóng toàn khối và đồng đều bằng một dụng cụ như đèn ga nhỏ điều chỉnh được hay dụng cụ đun nóng bằng điện có thể điều chỉnh chính xác. Khối kim loại có một khoang hình ống nằm song song, bên dưới và cách bề mặt đánh bóng khoảng 3 mm, có kích thước thích hợp để chứa được một nhiệt kế thủy ngân, đặt ở vị trí giống vị trí khi hiệu chuẩn.

Dụng cụ được hiệu chuẩn bằng một chất chuẩn thích hợp đã ghi trong phương pháp 1.

Cách xác định

Đun nóng khối kim loại với một tốc độ thích hợp tới nhiệt độ dưới điểm nóng chảy dự kiến khoảng 10 °C thì điều chỉnh nhiệt độ tăng 1 °C/phút, tại những khoảng thời gian đều nhau, thả một vài hạt chất thử đã được làm khô bằng phương pháp thích hợp hay theo sự chỉ dẫn trong chuyên luận và nghiền thành bột mịn lên bề mặt khối kim loại gần vị trí của bầu thủy ngân của nhiệt kế, lau sạch bề mặt sau mỗi lần thử nghiệm. Ghi lại nhiệt độ mà tại đó chất thử tan chảy lần đầu tiên ngay khi nó chạm tới bề mặt kim loại (t_1) và ngừng đun ngay. Trong khi để nguội dần, lại thả một vài hạt chất thử trong khoảng thời gian đều đặn, lau sạch bề mặt sau mỗi lần thử. Ghi lại nhiệt độ mà tại đó chất thử ngừng tan chảy ngay khi tiếp xúc với bề mặt tấm kim loại (t_2). Điểm chảy tức thời được tính theo công thức:

$$(t_1 + t_2)/2$$

Phương pháp 4

Xác định điểm nhỏ giọt (áp dụng cho vaselin và những chất tương tự).

Điểm nhỏ giọt là nhiệt độ mà tại đó giọt đầu tiên của chất thử nóng chảy rơi xuống từ một cái chén nhỏ trong điều kiện xác định dưới đây:

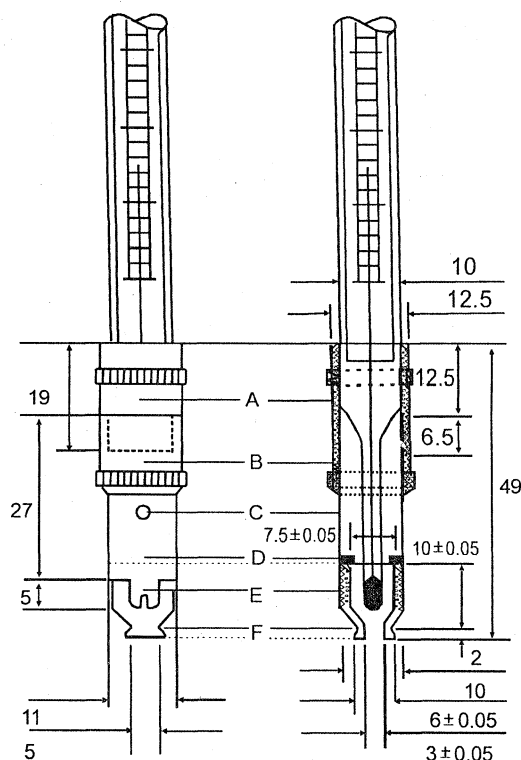
Dụng cụ (Hình 6.7)

Một ống kim loại (A) bao bọc nhiệt kế thủy ngân và được vận vào một ống kim loại thứ hai (B), một chén nhỏ bằng kim loại (F) được gắn cố định vào phần dưới của ống (B) bằng hai cái đai xiết chặt (E), vị trí chính xác của chén được xác định bằng hai giá đỡ (D) dài 2 mm và cũng dùng để giữ cho nhiệt kế ở chính giữa. Có một lỗ (C) xuyên qua thành của ống kim loại thứ 2 (B), được dùng để cân bằng áp suất.

Bề mặt lỗ thoát ở đáy chén phải phẳng và vuông góc với thành trong của nó. Nhiệt kế có đường kính trong của bầu thủy ngân từ 3,3 mm đến 3,7 mm, dài 5,7 mm đến 6,3 mm, được chuẩn hoá từ 0 °C đến 110 °C chia vạch 1 mm tương ứng 1 °C. Dụng cụ được đặt theo chiều dọc của một ống có kích thước khoảng 20 cm × 4 cm, được cố định bằng một cái nút và nhiệt kế xuyên qua nút theo một đường rãnh. Miệng lỗ thoát của chén cách đáy của ống khoảng 15 mm. Ống được nhúng vào một cái cốc vại có dung tích 1 lít, chứa nước sao cho đáy của ống cách đáy của cốc khoảng 25 mm, mặt thoáng của nước bằng với đầu trên của ống kim loại thứ nhất (A). Một dụng cụ khuấy được dùng để giữ cho nhiệt độ của nước đồng nhất.

Cách xác định

Nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận, đổ chất thử tới miệng chén mà không làm nóng chảy nó, dùng thìa xúc hóa chất để loại bỏ những phần dư ở miệng và đáy chén. Ấn chén vào vị trí của nó trong lớp vỏ kim loại (B) cho tới khi chạm tới giá đỡ, dùng thìa xúc bớt chất thử do nhiệt kế đẩy ra. Đun nóng cốc nước, khi nhiệt độ đạt tới thấp hơn nhiệt độ nóng chảy hay nhỏ giọt khoảng 10 °C thì điều chỉnh tốc độ tăng nhiệt độ khoảng 1 °C/phút và ghi nhiệt độ giọt chất lỏng đầu tiên rơi xuống. Tiến hành ít nhất 3 lần, mỗi lần thử với mẫu thử mới. Sự khác biệt giữa các lần đọc không quá 3 °C. Nhiệt độ trung bình của 3 lần xác định là điểm chảy hay điểm nhỏ giọt của mẫu thử.



Hình 6.7- Dụng cụ xác định điểm nhỏ giọt (kích thước tính bằng mm)

6.8 XÁC ĐỊNH NHIỆT ĐỘ SÔI VÀ KHOẢNG CHUNG CẮT

Nhiệt độ sôi của một chất lỏng là nhiệt độ đã hiệu chỉnh, tại đó áp suất hơi của chất lỏng đạt tới 101,3 kPa.

Xác định nhiệt độ sôi

Dụng cụ (Hình 6.8)

Bình chưng cất: Bình chưng cất đáy tròn, bằng thủy tinh chịu nhiệt có dung tích 50 ml đến 60 ml, cổ bình cao 10 cm đến 12 cm, đường kính trong của cổ bình từ 14 mm đến 16 mm, ở khoảng giữa chiều cao của cổ bình có một ống nhánh dài 10 cm đến 12 cm, đường kính trong 5 mm và tạo với phần dưới của cổ bình một góc 70° đến 75°.

Ống ngưng ruốt thẳng: Một ống thủy tinh thẳng dài 55 cm đến 60 cm, phần được cung cấp nước lạnh dài khoảng 40 cm. Ở cuối ống ngưng lắp một ống nối cong để dẫn chất lỏng cất được vào bình hứng.

Bình hứng: Là một ống đong thích hợp có dung tích 25 ml đến 50 ml, chia độ đến 0,5 ml.

Nguồn nhiệt có thể điều chỉnh được cường độ đốt nóng, có thể dùng bếp khí đốt, đèn cồn. Khi dùng bếp khí đốt hay đèn cồn phải dùng một lưới thép có phủ chất chịu nhiệt hình vuông, mỗi chiều dài 14 cm đến 16 cm, ở giữa có một lỗ tròn sao cho khi đặt bình cất vào, phần lọt xuống dưới lưới thép có phủ chất chịu nhiệt có dung tích 3 ml đến 4 ml.

Nhiệt kế đã hiệu chuẩn chia độ đến 0,5 °C hoặc tới 0,2 °C. Lắp nhiệt kế ở đúng giữa cổ bình và để đáy của bầu thủy ngân ngang với mức thấp nhất của cổ bình.

Cách xác định

Cho vào bình cất 20 ml chất thử, thêm vào bình cất vài viên bi thủy tinh hay đá bọt. Đun nóng bình nhanh cho đến sôi. Đọc nhiệt độ khi giọt chất lỏng đầu tiên hứng được.

Hiệu chỉnh nhiệt độ đọc được với áp suất khí quyển bằng công thức sau:

$$t_1 = t_2 + k(101,3 - b)$$

Trong đó:

t_1 là nhiệt độ đã được hiệu chỉnh;

t_2 là nhiệt độ đọc được ở áp suất b ;

b là áp suất không khí tại thời điểm thử nghiệm (tính theo kPa);

k là hệ số hiệu chỉnh có giá trị như ở bảng dưới đây:

Nhiệt độ sôi (°C)	Hệ số hiệu chỉnh
Dưới 100 °C	0,30
Trên 100 °C tới 140 °C	0,34
Trên 140 °C tới 190 °C	0,38
Trên 190 °C tới 240 °C	0,41
Trên 240 °C	0,45

Xác định khoảng chung cất

Khoảng chung cất của một chất lỏng là khoảng nhiệt độ được hiệu chỉnh ở áp suất 101,3 kPa, trong khoảng đó một chất lỏng hay một phần xác định chất lỏng chung cất được trong điều kiện dưới đây:

Dụng cụ

Dụng cụ giống như dụng cụ xác định điểm sôi, chỉ khác là bình cất có dung tích 200 ml và nhiệt kế lắp sao cho đầu trên của bầu thủy ngân thấp hơn thành dưới của ống nhánh 5 mm. Nhiệt kế được chia vạch tới 0,2 °C và có khoảng thang đo được 50 °C. Trong khi chưng cất bình và cổ bình được bảo vệ để tránh gió lùa bằng một tấm màn chắn thích hợp. Hứng dịch cất vào một ống đong 50 ml chia độ tới 1 ml. Làm lạnh ống ngưng bằng nước tuần hoàn đối với các chất chưng cất dưới 150 °C.

Cách xác định

Cho vào bình cất 50 ml chất lỏng thử nghiệm, thêm vài viên đá bọt. Đun bình sao cho chất lỏng sôi nhanh và ghi nhiệt độ tại đó giọt chất lỏng đầu tiên cất được nhỏ vào ống đong. Điều chỉnh nguồn nhiệt để có tốc độ cất 2 ml/phút đến 3 ml/phút và ghi lại nhiệt độ mà tất cả chất thử hay một phần quy định chất thử ở 20 °C được chưng cất hết.

Hiệu chỉnh nhiệt độ đọc được với áp suất khí quyển bằng công thức sau:

$$t_1 = t_2 + k(101,3 - b)$$

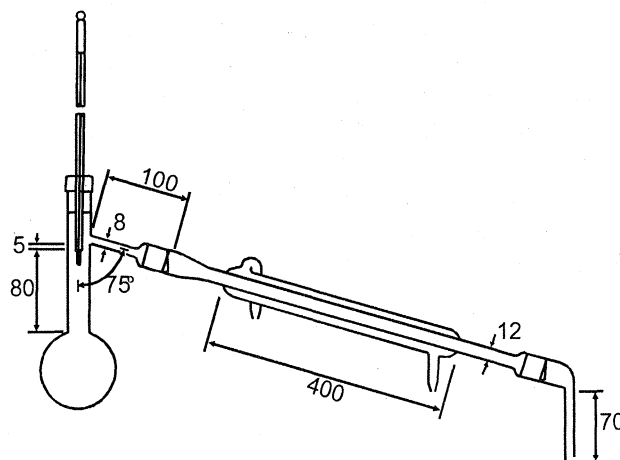
Trong đó:

t_1 là nhiệt độ đã được hiệu chỉnh;

t_2 là nhiệt độ đọc được ở áp suất b ;

b là áp suất không khí tại thời điểm thử nghiệm (tính theo kPa);

k là hệ số hiệu chỉnh ở bảng trong mục xác định điểm sôi, nếu không có hệ số nào khác được quy định trong chuyên luận riêng.



Hình 6.8- Dụng cụ xác định điểm sôi, khoảng chung cất (kích thước tính bằng mm).

6.9 XÁC ĐỊNH ĐỘ THẨM THẤU

Xác định độ thẩm thấu là một phương pháp đo nồng độ thẩm thấu của dung dịch mẫu thử từ phép đo của độ hạ băng điểm.

Khi một dung dịch và một dung môi tinh khiết được ngăn cách nhau bởi một màng bán thấm, thì dung môi có thể đi qua tự do nhưng chất tan thì không thể, một phần của dung môi tinh khiết sẽ đi qua màng sang bên ngăn của dung dịch. Sự chênh lệch áp suất giữa hai ngăn đồng thời với việc di chuyển của dung môi qua màng được định nghĩa là áp suất thẩm thấu. Áp suất thẩm thấu là một đặc tính vật lý phụ thuộc vào tổng các dạng tiểu phân có mặt, bao gồm cả các phân tử trung hòa và các ion, và không phụ thuộc vào bản chất chất tan. Các đặc tính của dung dịch như áp suất thẩm thấu, độ hạ băng điểm, độ tăng điểm sôi... không phụ thuộc vào bản chất của chất tan mà phụ thuộc vào tổng số của tất cả các dạng tiểu phân được gọi là các đặc tính phụ thuộc số lượng của dung dịch.

Áp suất thẩm thấu của một dung dịch polymer có thể đo trực tiếp như là sự chênh lệch áp suất thủy tĩnh giữa hai ngăn được cách nhau bởi một màng bán thấm, ví dụ màng cellulose. Tuy nhiên, nó không áp dụng đối với dung dịch có chứa các phân tử nhỏ có thể đi qua màng bán thấm. Mặc dù áp suất thẩm thấu của một dung dịch như vậy không thể đo được trực tiếp, hướng và mức độ của việc di chuyển dung môi qua màng sinh học có thể được dự đoán trước từ tổng số tất cả các tiểu phân có mặt khi dung dịch được đặt dưới các điều kiện sinh lý. Các đặc tính phụ thuộc số lượng khác của dung dịch như độ hạ băng điểm, độ tăng điểm sôi, độ hạ áp suất hơi... có thể thu được trực tiếp bằng cách theo dõi sự thay đổi của nhiệt độ và áp suất.... Những đặc tính này phụ thuộc vào tổng các dạng ion và phân tử trung hòa trong dung dịch cũng như áp suất thẩm thấu và nồng độ các hạt phân tử được định nghĩa như là nồng độ thẩm thấu. Nồng độ thẩm thấu có thể được định nghĩa bằng hai cách, một là nồng độ dựa trên khối lượng (độ thẩm thấu ξ_m , mol/kg) và cách khác là nồng độ dựa trên thể tích (độ thẩm thấu ξ_c , mol/l). Trong thực tế, cách thứ hai thuận tiện hơn.

Phương pháp đo độ hạ băng điểm thường được dùng để xác định nồng độ thẩm thấu, trừ khi có chỉ dẫn khác. Phương pháp dựa trên sự phụ thuộc tuyến tính của độ hạ băng điểm ΔT (°C) với độ thẩm thấu ξ_m (mol/kg) được biểu thị theo phương trình sau:

$$\Delta T = K \cdot \xi_m$$

Trong đó: K là hằng số của độ hạ băng điểm mol và bằng 1,86 °C kg/mol, khi dung môi là nước. Vì hằng số K được định nghĩa dựa trên nồng độ phân tử gam, nồng độ thẩm thấu mol có thể thu được từ phương

trình trên. Trong khoảng nồng độ thẩm thấu loãng, độ thẩm thấu ξ_m (mol/kg) có thể coi bằng độ thẩm thấu ξ_c (mol/l). Bởi vậy, độ thẩm thấu thông thường (mol/l) và đơn vị osmol (Osm) được chấp nhận trong phương pháp thử này.

Một Osm có nghĩa là có một số lượng tiểu phân bằng với số Avogadro ($6,022 \times 10^{23}$ /mol) chứa trong 1 lít dung dịch. Nồng độ thẩm thấu thường được biểu thị bằng đơn vị miliosmol (mOsm, mosmol/l).

Thiết bị

Thẩm thấu kế gồm một cốc đo chứa một thể tích xác định của dung dịch mẫu thử, một bộ phận giữ cốc đo, một bể làm lạnh có bộ phận điều chỉnh nhiệt độ và một nhiệt điện trở để phát hiện nhiệt độ.

Cách tiến hành

Một thể tích xác định của dung dịch thử được đưa vào cốc đo theo quy định đối với từng loại thiết bị.

Thiết bị trước tiên phải được hiệu chuẩn bằng phương pháp hiệu chuẩn hai điểm dùng các dung dịch chuẩn.

Để hiệu chuẩn, chọn hai dung dịch chuẩn khác nhau để nồng độ thẩm thấu của dung dịch thử nằm trong khoảng đó. Ngoài các dung dịch chuẩn được cho trong bảng dưới đây, nước có thể được dùng như là một dung dịch chuẩn (0 mOsm) để đo các dung dịch có độ thẩm thấu thấp (0 mOsm đến 100 mOsm). Sau khi rửa cốc đựng mẫu và nhiệt điện trở như chỉ dẫn trong từng thiết bị riêng, đo độ hạ băng điểm của dung dịch thử. Dùng phương trình đã nêu trên để tính độ thẩm thấu của dung dịch.

Trong trường hợp dung dịch có độ thẩm thấu lớn hơn 1000 mOsm, cần hòa loãng mẫu bằng cách thêm nước cất. Đo độ thẩm thấu của dung dịch pha loãng như chỉ dẫn ở trên. Trong trường hợp này, cần chỉ rõ độ thẩm thấu đã được tính đối với mẫu thử là độ thẩm thấu biểu kiến thu được bằng phương pháp pha loãng. Khi áp dụng phương pháp pha loãng, độ pha loãng nên được chọn để độ thẩm thấu đo được gần với độ thẩm thấu của dung dịch nước muối sinh lý.

Trong trường hợp mẫu thử ở trạng thái rắn như là thuốc đông khô, chuẩn bị dung dịch thử bằng cách hòa tan chất rắn trong dung môi thích hợp như chỉ dẫn.

Sự thích hợp của thiết bị

Sau khi hiệu chuẩn thiết bị, phép thử độ thích hợp phải được làm bằng cách lặp lại phép đo độ thẩm thấu đối với một dung dịch chuẩn không ít hơn 6 lần. Trong khi làm phép thử này nên chọn độ thẩm thấu của dung dịch thử và dung dịch chuẩn gần giống nhau. Trong phép thử này, độ lặp lại của giá trị đo và độ lệch trung bình nên nhỏ hơn 2,0 % và 3,0 % tương ứng.

Chuẩn bị dung dịch chuẩn để hiệu chuẩn thẩm thấu kế
Cân chính xác một lượng natri clorid chuẩn (đã được nung trước ở 500 °C đến 650 °C trong 40 phút đến

50 phút và để nguội trong bình hút ẩm) theo chỉ dẫn trong Bảng 6.9 và hòa tan natri clorid trong chính xác 100 g nước để làm dung dịch chuẩn

Bảng 6.9- Lượng natri clorid để pha dung dịch chuẩn

Dung dịch chuẩn để hiệu chuẩn thẩm thấu kế (mosmol/kg)	Lượng natri clorid (g)
100	0,309
200	0,626
300	0,946
400	1,270
500	1,593
700	2,238
1000	3,223

Tỷ số thẩm thấu

Trong phương pháp thử này tỷ số thẩm thấu được định nghĩa là tỷ số độ thẩm thấu của dung dịch thử đối với dung dịch natri clorid đẳng trương. Tỷ số có thể được dùng để đo độ đẳng trương của dung dịch thử. Vì độ thẩm thấu của dung dịch natri clorid đẳng trương (NaCl 0,900 g/100 ml) C_s (mOsm) được coi như là hằng số (286 mOsm), độ thẩm thấu của dung dịch thử là C_T (mOsm), tỷ số thẩm thấu được tính theo phương trình:

$$\text{Tỷ số thẩm thấu} = \frac{C_T}{C_s}$$

C_s : 286 mOsm

Khi phép đo được tiến hành bằng phương pháp pha loãng, vì mẫu thử có độ thẩm thấu lớn hơn 1000 mOsm, độ thẩm thấu biểu kiến của dung dịch mẫu C_T có thể được tính theo phương trình:

$$n \times C_T = C_T$$

Trong đó:

n là độ pha loãng;

C_T là độ thẩm thấu đo được của dung dịch loãng.

Trong phép tính này, đã chấp nhận giả thiết có sự tương quan tuyến tính giữa độ thẩm thấu và nồng độ dung dịch. Bởi vậy, khi có bước pha loãng, cần phải chỉ rõ độ pha loãng là n lần.

6.10 XÁC ĐỊNH ĐIỆN DẪN SUẤT

Điện dẫn suất (còn gọi là Độ dẫn điện riêng) là giá trị nghịch đảo của điện trở suất.

Một dây dẫn có độ dài L (cm) và thiết diện S (cm²) thì điện trở của nó được tính theo công thức:

$$R = \rho \frac{L}{S}$$

Trong đó:

ρ là điện trở suất.

Đơn vị của điện trở R là ôm (Ω), của điện trở suất ρ là ôm.cm (Ω .cm).

Đơn vị của độ dẫn điện là simen (S). Simen là nghịch đảo của ôm: $1 \text{ S} = 1/\Omega$.

Điện dẫn suất là nghịch đảo của ρ , có thứ nguyên là $\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ hoặc S/cm ($\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$).

Điện dẫn suất κ (kappa) của một dung dịch được biểu thị bằng độ dẫn điện của một lớp dung dịch giữa 2 mặt đối nhau của một khối lập phương có cạnh 1 cm.

$$\kappa = \frac{1}{\rho} \text{ S} \cdot \text{cm}^{-1}$$

Ngoài đơn vị simen trên centimét, $\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$, điện dẫn suất κ còn được biểu thị bằng microsimen trên centimét, $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Nếu không có chỉ dẫn riêng, nhiệt độ để xác định κ là 25 °C.

Thiết bị và cách tiến hành mô tả dưới đây được áp dụng để đo các mẫu có điện dẫn suất lớn hơn 10 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$. Việc đo điện dẫn suất của nước được đề cập trong các chuyên luận tương ứng.

Thiết bị

Thiết bị đo (là độ dẫn điện kế hay điện trở kế) được dùng để đo điện trở của cột chất lỏng giữa các điện cực của tế bào đo được nhúng trong chất lỏng cần đo. Thiết bị này dùng dòng điện xoay chiều để tránh ảnh hưởng của sự phân cực tại điện cực và được trang bị một đầu dò nhiệt độ và bộ phận bù chính nhiệt độ. Tế bào đo gồm hai điện cực platin song song được phủ lớp bột đen platin, cách nhau một khoảng cách L ; mỗi điện cực có diện tích bề mặt S . Cả hai điện cực được bảo vệ bằng một ống thủy tinh.

Một số loại tế bào đo khác với mô tả trên cũng có thể được sử dụng.

Hằng số C của tế bào đo được biểu thị bằng cm^{-1} theo phương trình:

$$C = \alpha \frac{L}{S}$$

Trong đó:

α là hệ số không có thứ nguyên, đặc trưng cho thiết kế của tế bào.

Thuốc thử dùng để xác định hằng số tế bào

Chuẩn bị 3 dung dịch chuẩn kali clorid có chứa lần lượt 0,7455 g, 0,0746 g và 0,0149 g kali clorid (TT) trong 1000 g dung dịch, dùng nước không có carbon dioxyl (TT) được điều chế từ nước cất có điện dẫn suất không quá 2 $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Điện dẫn suất và điện trở suất của 3 dung dịch này ở 20 °C cho trong Bảng 6.10.

Bảng 6.10 - Điện dẫn suất và điện trở suất của các dung dịch kali clorid

Nồng độ (g/1000 g)	Điện dẫn suất ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)	Điện trở suất ($\Omega.\text{cm}$)
0,7455	1330	752
0,0746	133,0	7519
0,0149	26,6	37594

Nếu điện dẫn suất được xác định ở nhiệt độ khác 20 °C, dùng phương trình sau để hiệu chỉnh điện dẫn suất của các dung dịch kali clorid cho trong bảng 6.10. Phương trình này chỉ có giá trị khi nhiệt độ trong khoảng 15 °C đến 25 °C

$$\kappa_T = \kappa_{20} [1 + 0,021(T - 20)]$$

Trong đó:

T là nhiệt độ quy định trong chuyên luận;

κ_T là điện dẫn suất của kali clorid ở T °C;

κ_{20} là điện dẫn suất của kali clorid ở 20 °C.

Cũng có thể sử dụng những dung dịch chuẩn khác được xác nhận cung cấp trên thị trường, nhất là đối với các tế bào đo có hằng số 0,1 cm^{-1} .

Cách tiến hành

Xác định hằng số tế bào

Chọn một tế bào đo thích hợp với tính chất và độ dẫn điện của dung dịch thử.

Điện dẫn suất của dung dịch cần đo càng cao thì cần chọn tế bào đo có hằng số C càng cao (có ρ thấp) để giá trị R đo được càng lớn càng tốt đối với máy đo. Các tế bào đo thường dùng có hằng số theo thứ tự là 0,1 cm^{-1} ; 1 cm^{-1} và 10 cm^{-1} .

Dùng một dung dịch chuẩn, ví dụ, dung dịch kali clorid nồng độ thích hợp, để xác định hằng số tế bào. Nên chọn dung dịch chuẩn có điện dẫn suất gần với giá trị điện dẫn suất dự kiến của dung dịch cần đo. Rửa tế bào vài lần với nước cất và ít nhất hai lần với dung dịch chuẩn kali clorid trên. Đo điện trở của tế bào với dung dịch kali clorid ở nhiệt độ 25 °C $\pm$ 1 °C, hoặc ở nhiệt độ quy định trong chuyên luận. Hằng số C (cm^{-1}) của tế bào đo được tính bởi công thức sau:

$$C = R_{\text{KCl}} \times \kappa_{\text{KCl}}$$

Trong đó:

R_{KCl} là điện trở đo được của dung dịch chuẩn kali clorid tính bằng mega ôm (M Ω);

κ_{KCl} là điện dẫn suất của dung dịch chuẩn kali clorid tính bằng $\mu\text{S.cm}^{-1}$;

Hằng số C đo được của tế bào phải nằm trong khoảng $\pm$ 5 % của giá trị đã cho.

Xác định điện dẫn suất của dung dịch thử

Sau khi hiệu chuẩn máy với một trong số các dung dịch chuẩn, rửa tế bào đo vài lần với nước cất và ít nhất hai lần với dung dịch mẫu thử ở 25 °C $\pm$ 1 °C, hoặc ở nhiệt độ quy định trong chuyên luận. Tiến hành tiếp theo các phép đo điện trở như quy định trong chuyên luận; từ điện trở đo được và hằng số tế bào xác định được ở trên, tính ra điện dẫn suất của dung dịch mẫu thử.

6.11 XÁC ĐỊNH KHỐI LƯỢNG RIÊNG CỦA CHẤT RẮN

Khối lượng riêng có liên quan đến sự phân bố không gian của chất trong một nguyên liệu.

Khối lượng riêng của chất rắn thường được biểu thị bằng số g/cm^3 , khác với chất lỏng, khối lượng riêng thường được biểu thị bằng g/ml ở một nhiệt độ quy định.

Khối lượng riêng của một tiểu phân chất rắn có thể có các giá trị khác nhau phụ thuộc vào phương pháp đo thể tích tiểu phân đó. Cần phân biệt ba loại khối lượng riêng khác nhau:

Khối lượng riêng thực của một chất là khối lượng trung bình tính trên một đơn vị thể tích, không tính đến tất cả các khoảng trống không có vai trò cơ bản trong việc sắp xếp các phân tử. Đó là một đặc tính bên trong của chất, bởi vậy nó không phụ thuộc vào phương pháp xác định. Khối lượng riêng thực của một tinh thể hoàn chỉnh có thể được xác định từ kích thước và cấu trúc của đơn vị cấu tạo.

Khối lượng riêng đo bằng picnomet được đo bằng picnomet sử dụng khí. Đó là một phép đo khối lượng riêng thuận tiện đối với các bột dược phẩm. Trong một picnomet khí, thể tích bị chiếm chỗ bởi một khối lượng bột đã biết được xác định bằng cách đo thể tích của khí được thay thế vào chỗ của bột. Tỷ số giữa khối lượng và thể tích là khối lượng riêng đo bằng picnomet.

Khối lượng riêng đo bằng picnomet bằng khối lượng riêng thực trừ khi nguyên liệu có chứa những khoảng trống mà chất khí không thể thâm nhập vào được hoặc các lỗ hổng bị bịt kín mà khí dùng trong phương pháp này không thể lọt vào được.

Khối lượng riêng hạt tính cả những lỗ hổng nhỏ hơn một kích cỡ giới hạn vào thể tích của tiểu phân. Giới hạn kích cỡ phụ thuộc vào phương pháp đo. Một kỹ thuật đo chung là đo độ xốp bằng thủy ngân, tại đó kích cỡ lỗ giới hạn phụ thuộc vào áp suất khuếch tán tối đa. Vì thể tích lỗ hổng được tính thêm vào, nên khối lượng riêng hạt không bao giờ lớn hơn khối lượng riêng thực.

Một khái niệm có liên quan là **khối lượng riêng khí động lực**, đó là khối lượng riêng của tiểu phân với một thể tích được xác định bằng sự bao bọc tiểu phân bằng

khí động lực trong một dòng chảy. Cả hai loại lỗ hồng kín và hở đều được tính đến nhưng các lỗ hở được làm đầy bằng chất lỏng tràn vào. Bởi vậy, khối lượng riêng khí động lực phụ thuộc vào khối lượng riêng của chất lỏng dùng trong phép thử nếu tiểu phân là xốp.

Tóm lại, khối lượng riêng đo bằng picnomet khí và khối lượng riêng thực đều chỉ khối lượng riêng, nếu cần có thể phân biệt dựa vào phương pháp đo.

Khối lượng riêng của một nguyên liệu phụ thuộc vào trạng thái tập hợp phân tử. Đối với chất khí và chất lỏng, khối lượng riêng chỉ phụ thuộc vào nhiệt độ và áp suất. Đối với chất rắn, khối lượng riêng sẽ rất khác nhau tùy thuộc vào cấu trúc kết tinh và độ kết tinh.

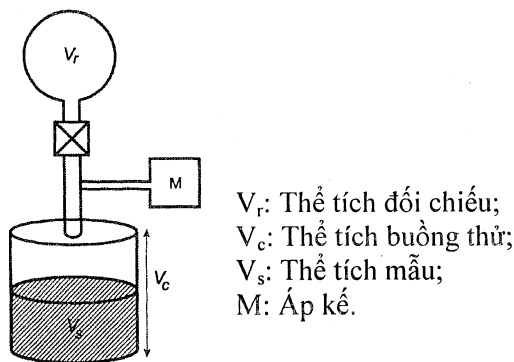
Nếu chất rắn ở thể vô định hình, khối lượng riêng của nó có thể phụ thuộc vào quá trình tinh chế và xử lý. Bởi vậy, không giống như chất lỏng, khối lượng riêng của hai chất rắn tương đương về mặt hóa học có thể khác nhau và sự khác nhau này phản ánh sự không giống nhau về cấu trúc trạng thái rắn. Khối lượng riêng của các hạt thành phần là một đặc tính lý học quan trọng của bột được phẩm.

Ngoài các định nghĩa trên về khối lượng riêng của tiểu phân, còn có *khối lượng riêng toàn khối* bao gồm cả thể tích trống giữa các hạt được tạo thành trong khối bột. Do đó, khối lượng riêng toàn khối phụ thuộc vào cả hai: Khối lượng riêng của các tiểu phân bột và sự sắp xếp của các tiểu phân bột.

Đo khối lượng riêng bằng picnomet khí

Đo bằng picnomet khí là một phương pháp thuận tiện và thích hợp để xác định khối lượng riêng của các tiểu phân bột.

Một loại picnomet khí đơn giản được mô tả như trong Hình 6.11.



Hình 6.11 - Sơ đồ picnomet khí

Mẫu thử có khối lượng w và thể tích V_s được đặt trong một buồng thử kín có thể tích của buồng rỗng là V_c . Áp suất đối chiếu của hệ thống là P_r được xác định bằng áp kế khi mở van nối thể tích đối chiếu với buồng thử. Sau đó van được đóng để tách riêng thể tích đối chiếu V_r khỏi buồng thử. Buồng thử được nén

với một áp suất ban đầu P_i . Sau đó van lại được mở để nối thể tích đối chiếu V_r với buồng thử và áp suất cuối cùng sẽ giảm xuống còn P_f . Thể tích của mẫu thử V_s được tính theo công thức:

$$V_s = V_c - \frac{V_r}{1 - \frac{P_i - P_r}{P_f - P_r}} \quad (1)$$

Khối lượng riêng ρ được tính theo phương trình:

$$\rho = \frac{w}{V_s} \quad (2)$$

Các chi tiết thiết kế thiết bị có thể khác nhau, nhưng tất cả các picnomet khí đều dựa trên việc đo sự thay đổi áp suất khi một thể tích đối chiếu được thêm vào hoặc giảm đi ở buồng thử.

Khối lượng riêng đo được là khối lượng riêng trung bình của các tiểu phân bột. Kết quả đo khối lượng riêng này sẽ mắc sai số nếu chất khí trong phép thử bị hấp phụ vào bột hoặc có các tạp chất bay hơi thoát ra ngoài trong quá trình đo. Sự hấp phụ chất khí có thể loại bỏ được bằng cách chọn loại khí thử thích hợp. Khí heli nói chung hay được chọn cho phép đo này. Các tạp chất bay hơi có trong bột có thể được loại ra khỏi bột bằng cách dùng khí heli áp suất không đổi trước khi đo. Đôi khi bột có thể được khử khí dưới chân không.

Hai lần đọc kết quả liên tiếp của thể tích mẫu thử phải nằm trong khoảng 0,2 % nếu các chất lạ bay hơi không có ảnh hưởng đến phép đo. Vì các chất bay hơi có thể thoát ra trong lúc đo, nên khối lượng của mẫu thường cân sau khi đo thể tích bằng picnomet.

Cách đo

Phải đảm bảo rằng thể tích đối chiếu và thể tích hiệu chuẩn dùng cho picnomet khí đã được xác định bằng một quy trình thích hợp. Khí dùng trong phép thử là heli trừ khi một loại khí khác được quy định trong chuyên luận riêng. Nhiệt độ picnomet khí nên duy trì trong khoảng 15 °C và 30 °C và không nên thay đổi quá 2 °C trong cả quá trình đo.

Cho mẫu thử đã được chuẩn bị như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng vào buồng đo. Dùng một lượng bột như hướng dẫn đối với picnomet. Đậy kín buồng thử, đẩy qua hệ thống picnomet dòng khí thử như trong hướng dẫn của nhà sản xuất. Nếu mẫu phải khử khí dưới chân không, làm như quy định trong chuyên luận riêng và hướng dẫn sử dụng của picnomet.

Lặp lại phép đo trên cùng mẫu bột cho đến khi các kết quả đo liên tiếp của thể tích mẫu V_s khớp trong khoảng 0,2 %. Cân lượng bột có trong cốc. Tính khối lượng riêng ρ của mẫu theo phương trình (2) ở trên.

PHỤ LỤC 7

7.1 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ ACETYL

Chỉ số acetyl là số miligam kali hydroxyd cần thiết để trung hòa acid acetic được giải phóng sau khi thủy phân 1 gam chế phẩm đã acetyl hóa.

Cách xác định

a) Xác định chỉ số xà phòng hóa của chế phẩm theo Phụ lục 7.7.

b) Acetyl hóa chế phẩm theo phương pháp sau: Lấy 10 g chế phẩm cho vào bình Kjeldahl dung tích 200 ml, thêm 20 ml *anhydrid acetic* (TT). Lắp ống sinh hàn ngược dùng nguồn làm lạnh là không khí. Đặt bình trên tấm lưới phủ chất chịu nhiệt có khoét một lỗ tròn đường kính 4 cm. Đun sôi nhẹ trong 2 giờ bằng ngọn lửa nhỏ có chiều cao không quá 25 mm và được điều chỉnh để lửa không chạm vào đáy bình. Để nguội, rót vào một cốc to chứa sẵn 600 ml nước, thêm 0,2 g *đá bọt* (TT) và đun sôi 30 phút. Làm nguội, chuyển sang bình gạn và gạn bỏ lớp dưới. Rửa chế phẩm đã acetyl hóa ít nhất 3 lần, mỗi lần với 50 ml *dung dịch natri clorid bão hòa* (TT) ấm, cho đến khi nước rửa không còn phản ứng acid với giấy quỳ. Cuối cùng, lắc với 20 ml nước ấm và loại thật kiệt nước. Rót chế phẩm đã acetyl hóa vào một bát sứ nhỏ, thêm 1 g *natri sulfat khan* (TT), khuấy kỹ rồi lọc qua giấy lọc khô gấp nếp.

c) Xác định chỉ số xà phòng hóa của chế phẩm đã acetyl hóa theo Phụ lục 7.7.

d) Tính chỉ số acetyl của chế phẩm theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số acetyl} = \frac{(b - a) \times 1335}{1335 - a}$$

Trong đó:

a là chỉ số xà phòng hóa của chế phẩm chưa acetyl hóa;

b là chỉ số xà phòng hóa của chế phẩm đã acetyl hóa.

7.2 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ ACID

Chỉ số acid là số miligam kali hydroxyd cần thiết để trung hòa các acid tự do chứa trong 1 gam chế phẩm.

Cách xác định

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, cân chính xác khoảng 10 g chế phẩm, thêm 50 ml hỗn hợp đồng thể tích *ethanol 96 %* (TT) và *ether* (TT) đã được trung hòa trước với *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N* (CD), dùng 0,5 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT₁) làm chỉ thị. Lắc để chế phẩm tan hoàn toàn. Nếu chế phẩm khó tan, có thể đun hồi lưu trên cách thủy. Chuẩn độ bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N* (CD),

lắc liên tục cho đến khi xuất hiện màu hồng bền vững trong 15 giây.

Tính chỉ số acid của chế phẩm theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số acid} = \frac{5,610 \times a}{P}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N* (CD) đã dùng;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

7.3 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ ESTER

Chỉ số ester là số miligam kali hydroxyd cần thiết để xà phòng hóa các ester có trong 1 gam chế phẩm.

Cách xác định

a) Xác định chỉ số xà phòng hóa của chế phẩm theo Phụ lục 7.7.

b) Xác định chỉ số acid của chế phẩm theo Phụ lục 7.2.

Tính chỉ số ester bằng cách lấy chỉ số xà phòng hóa trừ đi chỉ số acid của chế phẩm.

7.4 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ HYDROXYL

Chỉ số hydroxyl là số miligam kali hydroxyd cần thiết để trung hòa acid tổ hợp do acyl hóa 1 gam chế phẩm.

Cách xác định

Sử dụng phương pháp A, trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

Phương pháp A

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, cân chính xác một lượng chế phẩm (theo chỉ dẫn trong Bảng 7.4) cho vào bình acetyl hóa dung tích 150 ml có lắp ống sinh hàn ngược dùng nguồn làm lạnh là không khí, thêm lượng *thuốc thử pyridin - anhydrid acetic* (TT) tương ứng. Đun sôi 1 giờ trong cách thủy, điều chỉnh để mực nước cao hơn mực chất lỏng trong bình khoảng 2,5 cm. Lấy bình cùng ống sinh hàn ra khỏi nồi cách thủy, để nguội, dùng 5 ml nước rửa ống sinh hàn. Nếu hỗn hợp bị đục, thêm *pyridin* (TT) vừa đủ để làm trong. Ghi lại số ml *pyridin* (TT) đã thêm. Lắc và đun lại trong cách thủy 10 phút nữa, rồi lấy ra, để nguội. Rửa ống sinh hàn và thành bình với 5 ml *ethanol 96 %* (TT) đã trung tính trước với *dung dịch phenolphthalein* (TT₁). Chuẩn độ bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N* trong *ethanol* (CD), dùng 0,2 ml *dung dịch phenolphthalein* (TT₁). Song song tiến hành một mẫu trắng.

Tính chỉ số hydroxyl của chế phẩm theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số hydroxyl} = \frac{(b - a) \times 28,05}{P} + \text{chỉ số acid}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CD)* đã dùng trong mẫu thử;

b là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CD)* đã dùng trong mẫu trắng;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

Bảng 7.4- Lượng chế phẩm và lượng thuốc thử tương ứng

Chỉ số hydroxyl	Lượng chế phẩm cần lấy (g)	Lượng thuốc thử pyridin - anhydrid acetic (ml)
10 - 100	2,0	5,0
100 - 150	1,5	5,0
150 - 200	1,0	5,0
200 - 250	0,75	5,0
250 - 300	0,60 hay 1,20	5,0 hay 10,0
300 - 350	1,0	10,0
350 - 700	0,75	15,0
700 - 950	0,5	15,0

Phương pháp B

Cho lượng chế phẩm đã chỉ dẫn vào bình nón nút mài hoàn toàn khô dung tích 5 ml, thêm 2 ml *thuốc thử anhydrid propionic (TT)*. Đậy nút và lắc nhẹ nhàng cho đến khi chế phẩm tan hoàn toàn. Để yên trong 2 giờ. Nếu không có chỉ dẫn khác, mở nắp, cho cả bình vào một bình nón rộng miệng dung tích 500 ml, có chứa sẵn 25,0 ml *dung dịch anilin trong cyclohexan (TT)* và 30 ml *acid acetic băng (TT)*. Lắc tròn, để yên 5 phút và chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)* cho đến màu xanh ngọc, dùng 0,05 ml *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị. Song song tiến hành một mẫu trắng.

Tính chỉ số hydroxyl của chế phẩm theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số hydroxyl} = \frac{(a - b) \times 5,610}{P}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)* đã dùng trong mẫu thử;

b là số ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD)* đã dùng trong mẫu trắng;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

Xác định hàm lượng (%) nước trong chế phẩm (A) theo Phụ lục 10.3. Tính chỉ số hydroxyl hiệu chỉnh theo công thức sau:

Chỉ số hydroxyl hiệu chỉnh = Chỉ số hydroxyl - $31,1 \times A$.

7.5 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ IOD

Chỉ số iod là số gam halogen, tính theo iod, kết hợp với 100 g chế phẩm trong những điều kiện qui định.

Cách xác định

Sử dụng phương pháp iod bromid, trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

Phương pháp iod bromid

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, lấy lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong Bảng 7.5 để thử.

Bảng 7.5- Lượng chế phẩm cần lấy

Chỉ số iod	Lượng chế phẩm cần lấy (g)
Dưới 20	1,0
20 - 60	0,25 đến 0,5
60 - 100	0,15 - 0,25
Trên 100	0,10 - 0,15

Cân lượng chế phẩm đã chỉ dẫn, cho vào bình nón nút mài đã được làm khô hoặc được tráng bằng *acid acetic băng (TT)*, nếu không chỉ dẫn khác, hòa tan trong 15 ml *cloroform (TT)*. Thêm từ từ 25,0 ml *dung dịch iod bromid (TT)*, đậy nút, nếu không có chỉ dẫn khác, để yên trong chỗ tối 30 phút, thỉnh thoảng lắc. Thêm 10 ml *dung dịch kali iodid 10 % (TT)* và 100 ml *nước cất*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CD)*, lắc mạnh cho đến khi dung dịch có màu vàng nhạt, thêm 5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và tiếp tục chuẩn độ chậm cho đến khi dung dịch mất màu. Song song tiến hành một mẫu trắng.

Tính chỉ số iod của chế phẩm theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số iod} = \frac{1,269 \times (b - a)}{P}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CD)* đã dùng trong mẫu thử;

b là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CD)* dùng trong mẫu trắng;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

Phương pháp iod monoclorid

Nếu chuyên luận quy định dùng bình định lượng iod, trừ khi có chỉ dẫn khác, dùng loại bình dung tích 250 ml và đáp ứng các tiêu chuẩn quốc gia.

Hòa tan lượng chế phẩm đã chỉ dẫn với 10 ml *dicloromethan (TT)* trong một bình định lượng iod khô. Thêm 20 ml *dung dịch iod monoclorid (TT)*. Đậy nút đã được làm ướt với *dung dịch kali iodid 10 % (TT)*, để yên 30 phút trong chỗ tối ở nhiệt độ 15 °C đến 25 °C. Nhỏ 15 ml *dung dịch kali iodid 10 % (TT)* lên miệng bình và cẩn thận mở nút. Rửa nút, miệng và thành bình với 100 ml nước, lắc đều. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CD)*, lắc mạnh cho

đến khi dung dịch có màu vàng nhạt, thêm 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và tiếp tục chuẩn độ chậm cho đến khi dung dịch mất màu. Song song tiến hành một mẫu trắng.

Tính chỉ số iod của chế phẩm theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số iod} = \frac{1,269 \times (b - a)}{P}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CD)* đã dùng trong mẫu thử;

b là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CD)* dùng trong mẫu trắng;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

Có thể tính lượng chế phẩm đem thử (g) bằng cách lấy 20 chia cho chỉ số iod lý thuyết cao nhất của chế phẩm. Nếu mẫu thử tiêu thụ quá nửa lượng thuốc thử iod monoclorid cho vào, phải làm lại thí nghiệm với lượng chế phẩm nhỏ hơn.

7.6 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ PEROXYD

Chỉ số peroxyd là số mili đương lượng gam oxygen hoạt tính biểu thị lượng peroxyd chứa trong 1000 g chế phẩm khi được xác định theo các phương pháp dưới đây.

Cách xác định

Sử dụng phương pháp A, khi chuyên luận riêng không qui định phương pháp thử.

Phương pháp A

Cân 5,00 g chế phẩm cho vào bình nón nút mài dung tích 250 ml, thêm 30 ml hỗn hợp gồm 3 thể tích *acid acetic băng (TT)* và 2 thể tích *cloroform (TT)*, lắc cho tan và thêm 0,5 ml *dung dịch kali iodid bão hòa (TT)*. Lắc đúng 1 phút, thêm 30 ml *nước*. Chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CD)*, liên tục lắc mạnh, cho đến khi màu vàng gần như biến mất. Thêm 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và tiếp tục chuẩn độ, lắc mạnh, đến khi dung dịch mất màu.

Song song tiến hành một mẫu trắng. Lượng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CD)* đã dùng trong mẫu trắng không được vượt quá 0,1 ml.

Chỉ số peroxyd của chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số peroxyd} = \frac{(a - b) \times 10}{P}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CD)* đã dùng trong mẫu thử;

b là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CD)* đã dùng trong mẫu trắng;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

Phương pháp B

Tiến hành thử trong điều kiện tránh ánh sáng.

Cân chính xác một lượng chế phẩm (theo chỉ dẫn trong bảng 7.6.) cho vào bình nón nút mài dung tích 250 ml, thêm 50 ml hỗn hợp gồm 3 thể tích *acid acetic băng (TT)* và 2 thể tích *trimethylpentan (TT)*. Đậy nút, lắc cho tan và thêm 0,5 ml *dung dịch kali iodid bão hòa (TT)*. Đậy nút, để yên 59 giây đến 61 giây, lắc mạnh, rồi thêm 30 ml *nước*. Chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CD)*, liên tục lắc mạnh, cho đến khi có màu vàng gần như biến mất. Thêm 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và tiếp tục chuẩn độ, liên tục lắc mạnh, nhất là gần điểm kết thúc để giải phóng hết iod ra khỏi lớp dung môi. Thêm từng giọt *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CD)* cho đến khi mất màu lam.

Bảng 7.6- Lượng chế phẩm cần lấy

Chỉ số peroxyd	Lượng chế phẩm cần lấy (g)
0 - 12	2,00 - 5,00
12 - 20	1,20 - 2,00
20 - 30	0,80 - 1,20
30 - 50	0,50 - 0,80
50 - 90	0,30 - 0,50

Tùy thuộc vào lượng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CD)* đã sử dụng, nếu cần có thể thay thế bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CD)*.

Ghi chú: Đối với chỉ số peroxyd ≥ 70 , khi chuẩn độ đến dung dịch có màu vàng nhạt, chờ 15 giây đến 30 giây mới thêm *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, do trimethyl-pentan có xu hướng nổi lên bề mặt lớp nước và đây là thời gian cần thiết để trộn dung môi với dung dịch định lượng, đồng thời giải phóng hết iod. Nên dùng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CD)* khi chỉ số peroxyd lớn hơn 150. Có thể cho lượng nhỏ dung dịch chất nhũ hóa cân bằng ưa nước/ưa dầu cao (như polysorbat 60) 0,5 % đến 1,0 % (kl/kl) vào hỗn hợp phản ứng để làm chậm sự tách pha và đẩy nhanh thời gian giải phóng iod.

Song song tiến hành một mẫu trắng. Nếu lượng dung dịch natri thiosulfat dùng trong mẫu trắng vượt quá 0,1 ml, tiến hành thử nghiệm lại.

Chỉ số peroxyd của chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số peroxyd} = \frac{(a - b) \times 1000 \times c}{P}$$

Trong đó:

a là số ml dung dịch natri thiosulfat đã dùng trong mẫu thử;

b là số ml dung dịch natri thiosulfat đã dùng trong mẫu trắng;

c là nồng độ đương lượng của dung dịch natri thiosulfat;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

7.7 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ XÀ PHÒNG HÓA

Chỉ số xà phòng hóa là số mili gam kali hydroxyd cần thiết để trung hòa các acid tự do và để xà phòng hóa các este chứa trong 1 g chất thử.

Cách xác định

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, lấy lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong bảng 7.7 để thử.

Bảng 7.7- Lượng chế phẩm cần lấy

Chỉ số xà phòng hóa	Lượng chế phẩm cần lấy (g)
3 - 10	12,0 - 15,0
10 - 40	8,0 - 12,0
40 - 60	5,0 - 8,0
60 - 100	3,0 - 5,0
100 - 200	2,5 - 3,0
200 - 300	1,0 - 2,0
300 - 400	0,5 - 1,0

Cân chính xác lượng chế phẩm đã chỉ dẫn cho vào bình nón nút mài dung tích 250 ml. Thêm 25,0 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)* và vài viên bi thủy tinh. Lắp ống sinh hàn ngược và, trừ khi có chỉ dẫn khác, đun sôi 30 phút trên cách thủy, thỉnh thoảng lắc. Thêm 1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT₁)* và chuẩn độ ngay (khi dung dịch còn đang nóng) bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)*. Song song tiến hành một mẫu trắng.

Chỉ số xà phòng hóa của chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số xà phòng hóa} = \frac{28,05 \times (b - a)}{P}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)* đã dùng trong mẫu trắng;

b là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)* đã dùng trong mẫu thử;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

7.8 XÁC ĐỊNH CHẤT KHÔNG BỊ XÀ PHÒNG HÓA

Chất không bị xà phòng hóa, được tính bằng tỷ lệ phần trăm (kl/kl), là phần không bay hơi ở 100 °C đến 105 °C thu được khi chiết chế phẩm đã được xà phòng hóa với một dung môi hữu cơ.

Cách xác định

Dùng phương pháp 1, trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

Phương pháp 1

Cân chính xác khoảng 2,0 g đến 2,5 g chế phẩm cho vào bình dung tích 250 ml, thêm 25 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol* và đun sôi 1 giờ dưới ống sinh hàn ngược trên cách thủy, thỉnh thoảng lắc. Chuyển dung dịch sang bình gạn, tráng rửa bình với 50 ml nước và khi dung dịch còn đang ấm, chiết bằng cách lắc mạnh 3 lần, mỗi lần với 50 ml *ether không có peroxyd (TT)*, dùng 50 ml ether đầu để tráng rửa bình. Tập trung dịch chiết ether vào một bình gạn khác chứa sẵn 20 ml nước. Nếu dịch chiết ether có chứa các tiểu phân rắn lơ lửng, lọc qua giấy lọc loại không có chất béo, rồi rửa giấy lọc bằng *ether không có peroxyd (TT)*. Lắc nhẹ bình gạn trong vài phút, để yên cho tách lớp và loại bỏ lớp nước. Rửa dịch chiết ether bằng cách lắc mạnh 2 lần, mỗi lần với 20 ml nước và sau đó 3 lần, mỗi lần với 20 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N (TT)*, lắc mạnh và rửa với 20 ml nước sau mỗi lần xử lý. Cuối cùng rửa nhiều lần, mỗi lần với 20 ml nước, cho đến khi nước rửa không còn phản ứng kiềm với *dung dịch phenolphthalein (TT₁)*. Chuyển dịch chiết ether vào một bình đã cân bì và tráng bình gạn bằng *ether không có peroxyd (TT)*. cất bay hơi ether, rồi thêm 3 ml *aceton (TT)*. Dùng luồng không khí nhẹ nhàng đuổi hết dung môi ra khỏi bình được ngâm ngập trong nước đang sôi, để nghiêng và quay tròn. Sấy bình đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ không quá 80 °C.

Hòa tan cân trong bình với 10 ml *ethanol 96 % (TT)* mới đun sôi và đã được trung tính với *dung dịch phenolphthalein (TT₁)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* với chỉ thị là *dung dịch phenolphthalein (TT₁)*.

Nếu lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* tiêu thụ không quá 0,1 ml, khối lượng cân cân được là lượng chất không bị xà phòng hóa. Tỷ lệ phần trăm chất không bị xà phòng hóa có trong chế phẩm.

Nếu lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* tiêu thụ quá 0,1 ml, phải làm lại thí nghiệm.

Phương pháp 2

Cân chính xác lượng chế phẩm theo chỉ dẫn (P g) cho vào một bình dung tích 250 ml, thêm 50 ml *dung dịch kali hydroxyd 2 M trong ethanol (TT)* và đun 1 giờ dưới ống sinh hàn ngược trên cách thủy, thỉnh thoảng lắc. Làm nguội tới nhiệt độ dưới 25 °C và chuyển dung dịch sang một bình gạn, tráng rửa với 100 ml nước, rồi chiết cẩn thận 3 lần, mỗi lần với 100 ml *ether không có peroxyd (TT)*. Tập trung dịch chiết ether vào một bình gạn khác chứa sẵn 40 ml nước, lắc nhẹ vài phút, để yên cho tách lớp và loại bỏ lớp nước. Rửa dịch chiết ether 2 lần, mỗi lần với 40 ml nước và sau đó 3 lần, mỗi lần với 40 ml *dung dịch kali hydroxyd 3 % (TT)*, rửa với 40 ml nước sau mỗi lần xử lý. Cuối cùng rửa nhiều lần, mỗi lần với 40 ml nước, cho

đến khi nước rửa không còn phản ứng kiềm với *dung dịch phenolphthalein* (TT₁). Chuyển *dung dịch ether* vào bình đã cân bì, rửa bình gạn với *ether không có peroxyd* (TT). Cất cẩn thận cho bay hơi hết ether, thêm 6 ml *aceton* (TT) vào cân. Dùng luồng khí nhẹ nhàng đuổi hết *dung môi* ra khỏi bình và sấy khô cân đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C. Để nguội bình trong bình hút ẩm và cân xác định khối lượng cân (A g). Tính tỷ lệ phần trăm chất không bị xà phòng hóa trong chế phẩm theo công thức:

$$100 \text{ A/P}$$

Hòa tan cân trong 20 ml *ethanol 96 %* (TT) đã được trung hòa trước với *dung dịch phenolphthalein* (TT) và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol* (CĐ). Nếu lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol* (CĐ) tiêu thụ quá 0,2 ml, cân đã cân không được coi là chất không bị xà phòng hóa và phải làm lại thí nghiệm.

7.9 XÁC ĐỊNH LƯU HUỖNH DIOXYD

Áp dụng phương pháp 1, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Phương pháp 1

Dụng cụ

Bình cầu dung tích 1000 ml đến 1500 ml được lắp với sinh hàn ngược. Đầu trên của sinh hàn nối liên tiếp với hai ống hấp thụ, mỗi ống chứa 10 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 20 thể tích* (TT) mới được trung hòa với *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ), dùng *dung dịch xanh bromophenol* (TT) làm chỉ thị. Bình được lắp một vòi sục khí với đầu gần chạm đáy bình.

Cách tiến hành

Cho 500 ml *nước* và 20 ml *acid hydrochloric* (TT) vào bình. Sục luồng khí nitơ hay carbon dioxyd đã đi qua *dung dịch natri carbonat 10 %* (TT), đun từ từ *dung dịch* trong bình cho đến sôi. Duy trì luồng khí sục, để *dung dịch* sôi trong khoảng 10 phút, làm nguội bằng cách nhúng bình từ từ vào nước. Mở nắp, cho nhanh lượng chế phẩm đã cân (50 g đến 100 g) vào bình, đun nhẹ và để sôi trong 45 phút. Tháo hai ống hấp thụ trước khi ngừng sục khí. Gộp *dung dịch* trong hai ống hấp thụ và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ).

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ) tương đương với 3,203 mg SO₂.

Lặp lại phép thử trên, nhưng không có chế phẩm. *Dung dịch* trong ống hấp thụ vẫn phải trung tính.

Phương pháp 2

Cho 150 ml *nước* vào bình A (Hình 7.9.) và sục khí carbon dioxyd 15 phút qua toàn bộ hệ thống với tốc độ 100 ml/min. Lấy 10 ml *dung dịch hydrogen peroxyd loãng* (TT), thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromophenol*

trong ethanol (TT). Thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ) cho đến khi xuất hiện màu tím xanh (không vượt quá điểm tương đương) và chuyển *dung dịch* thu được vào ống nghiệm D.

Duy trì luồng khí sục carbon dioxyd, tháo bình gạn B ra và dùng 100 ml *nước* chuyển khoảng 25,0 g chế phẩm vào bình A. Qua bình gạn, cho 80 ml *dung dịch acid hydrochloric 10 %* (TT) vào bình A và đun sôi 1 giờ. Mở khóa bình gạn, ngừng sục khí, dùng đun nóng và *nước sinh hàn*. Dùng một ít *nước* chuyển *dung dịch* trong ống nghiệm D sang bình nón miệng rộng dung tích 200 ml. Đun 15 phút trên cách thủy và để nguội. Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromophenol trong ethanol* (TT) và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ) cho đến khi chuyển màu từ vàng sang xanh tím.

Song song tiến hành một mẫu trắng.

Hàm lượng lưu huỳnh dioxyd (phần triệu) được tính theo công thức sau:

$$32030 \times (V_1 - V_2) \times \frac{n}{m}$$

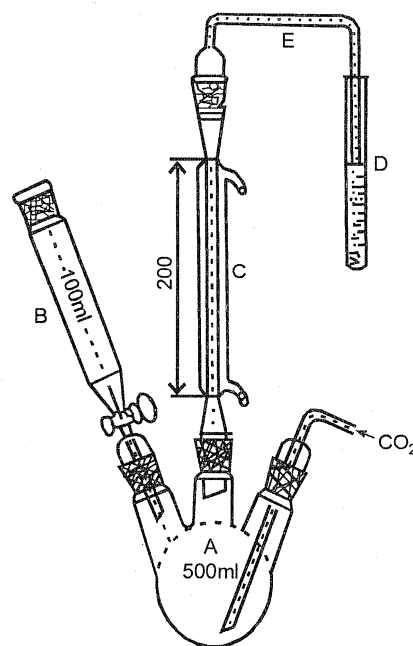
Trong đó:

V₁ là số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ) đã dùng trong mẫu thử;

V₂ là số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ) đã dùng trong mẫu trắng;

n là nồng độ đương lượng thực của *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N* (CĐ);

m là lượng chế phẩm đem thử (g).



Hình 7.9 - Dụng cụ xác định lưu huỳnh dioxyd.

7.10 XÁC ĐỊNH CÁC CHẤT OXY HÓA

Cách xác định

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, cân chính xác khoảng 4,0 g chế phẩm cho vào bình nón nút mài dung tích 125 ml, thêm 50,0 ml nước. Đậy nút và lắc 5 phút. Chuyển sang ống nút mài dung tích 50 ml và ly tâm. Lấy 25,0 ml dung dịch trong ở trên cho vào bình nón nút mài dung tích 125 ml, thêm 1 ml *acid acetic* băng (TT) và 0,5 g đến 1,0 g *kali iodid* (TT). Đậy nút, lắc nhẹ và để yên 25 phút đến 30 phút trong chỗ tối. Thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột* (TT) và định lượng bằng *dung dịch natri thiosulfat* 0,002 N (CĐ) cho đến khi dung dịch mất màu. Song song tiến hành một mẫu trắng.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat* 0,002 N (CĐ) tương ứng với 34 µg chất oxy hóa, tính theo H₂O₂.

Hàm lượng chất oxy hóa, tính theo H₂O₂, không được quá 0,002 % (kl/kl), trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

7.11 XÁC ĐỊNH CARBON HỮU CƠ TOÀN PHẦN TRONG NƯỚC DÙNG CHO NGÀNH DƯỢC

Lượng carbon hữu cơ toàn phần (TOC) có trong nước dùng cho ngành dược được xác định bằng một phép định lượng gián tiếp các chất hữu cơ. Việc định lượng TOC cũng có thể được dùng để kiểm soát quá trình thực hiện các công đoạn khác nhau trong sản xuất thuốc.

Có nhiều phương pháp xác định TOC. Bởi vậy, thay vì đưa ra một kỹ thuật cụ thể, chuyên luận chung này chỉ mô tả các quy trình được sử dụng để đánh giá phương pháp đã chọn và xử lý kết quả trong các phép thử giới hạn. Một dung dịch chuẩn được phân tích sau những khoảng thời gian thích hợp, tùy thuộc vào tần suất đo. Dung dịch chuẩn này được pha từ một chất dễ bị oxy hóa (như đường trắng) có nồng độ được điều chỉnh đủ để thiết bị phát hiện được và tương ứng với giới hạn TOC cần đo. Độ thích hợp của hệ thống được xác định bằng việc phân tích dung dịch một chất khó bị oxy hóa hơn (như 1,4 - benzoquinon).

Nói chung, các kiểu thiết bị dùng để xác định TOC trong nước dùng cho ngành dược đều hoạt động theo nguyên lý oxy hóa hoàn toàn các phân tử chất hữu cơ trong mẫu nước thử thành carbon dioxyd, sau đó định lượng carbon dioxyd tạo thành và dùng kết quả thu được để tính hàm lượng carbon trong nước.

Thiết bị sử dụng phải phân biệt được carbon hữu cơ và carbon vô cơ (thường tồn tại ở dạng carbonat). Khả năng phân tách phải hiệu quả bằng cách xác định lượng carbon vô cơ rồi tính lượng carbon hữu cơ bằng cách trừ nó khỏi hàm lượng carbon toàn phần. Cũng có thể loại sạch carbon vô cơ khỏi mẫu thử trước khi oxy hóa. Trong trường hợp này có thể có những phân tử carbon hữu cơ cũng bị loại theo, tuy nhiên, những chất hữu cơ đó tồn tại rất ít trong nước dùng cho ngành dược.

Thiết bị

Sử dụng loại thiết bị đã được hiệu chỉnh gắn trên dây chuyền hoặc đặt riêng rẽ. Kiểm tra độ thích hợp của hệ thống sau những khoảng thời gian thích hợp như mô tả ở dưới đây. Thiết bị phải có giới hạn phát hiện ≤ 0,05 mg carbon/l.

Nước TOC

Sử dụng nước tinh khiết cao đạt các tiêu chuẩn sau:

Điện dẫn suất: Không quá 1,0 µS.cm⁻¹ ở 25 °C.

TOC: Không quá 0,1 mg/l.

Tùy thuộc vào loại thiết bị sử dụng, hàm lượng kim loại nặng và đồng có thể phải được khống chế. Cần tuân theo các hướng dẫn của nhà sản xuất thiết bị.

Chuẩn bị đồ thủy tinh

Sử dụng đồ thủy tinh được rửa sạch cẩn thận bằng phương pháp thích hợp để loại bỏ các chất hữu cơ. Cuối cùng, dùng nước TOC để tráng lại.

Dung dịch chuẩn

Hòa tan đường trắng, đã được sấy khô 3 giờ ở 105 °C, trong nước TOC để thu được dung dịch chứa 1,19 mg đường trắng/l (0,50 mg carbon/l).

Dung dịch thử

Thực hiện tất cả các biện pháp cần thiết để tránh ô nhiễm. Lấy đầy nước cần thử vào một bình kín. Kiểm tra nước càng nhanh càng tốt để giảm thiểu ô nhiễm do đồ chứa và nút đậy của nó.

Dung dịch kiểm tra độ thích hợp của hệ thống

Hòa tan 1,4-benzoquinon trong nước TOC để thu được dung dịch có nồng độ 0,75 mg 1,4-benzoquinon/l (0,50 mg carbon/l).

Kiểm soát nước TOC

Sử dụng nước TOC thu được vào cùng thời điểm lấy để pha chế dung dịch chuẩn và dung dịch kiểm tra độ thích hợp của hệ thống.

Các dung dịch kiểm tra

Ngoài việc kiểm soát nước TOC, chuẩn bị các dung dịch trắng thích hợp hay các dung dịch cần thiết khác để hiệu chỉnh đường nền theo hướng dẫn của nhà sản xuất thiết bị. Tiến hành thử các mẫu trắng thích hợp để chỉnh thiết bị về không.

Độ thích hợp của hệ thống

Tiến hành thử và ghi lại đáp ứng của các dung dịch sau: Nước TOC (R_N), dung dịch chuẩn (R_C) và dung dịch kiểm tra độ thích hợp của hệ thống (R_{TH}). Tính tỷ lệ phần trăm hiệu quả đáp ứng theo công thức sau:

$$RE = \frac{R_{TH} - R_N}{R_C - R_N} \times 100$$

Hệ thống được coi là thích hợp nếu RE nằm trong khoảng 85,0 % đến 115,0 %.

Cách tiến hành

Tiến hành kiểm tra mẫu nước thử và ghi lại đáp ứng (R_T). Mẫu nước thử được coi là đạt yêu cầu khi $R_T \leq R_C - R_N$.

Có thể áp dụng phương pháp này khi sử dụng thiết bị đặt trong dây chuyền đã được hiệu chỉnh đúng mức và có độ thích hợp hệ thống chấp nhận được. Vị trí đặt thiết bị phải được lựa chọn để đảm bảo các đáp ứng là đại diện cho nước được sử dụng.

PHỤ LỤC 8

8.1 CÁC PHẢN ỨNG ĐỊNH TÍNH

Acetat

A. Đun nóng chế phẩm với cùng một lượng *acid oxalic* (TT). Hơi xông ra có mùi acid acetic.

B. Hòa tan khoảng 30 mg chế phẩm trong 3 ml *nước* hoặc lấy 3 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm lần lượt 0,25 ml *dung dịch lanthan nitrat 5 %* (TT), 0,1 ml *dung dịch iod 0,1 N* và 0,05 ml *dung dịch amoniac 2 M* (TT) và đun nóng hỗn hợp cẩn thận đến sôi, sau vài phút xuất hiện tủa màu xanh lam hay màu xanh lam thẫm.

Nhóm acetyl

Lấy một ống nghiệm (kích thước 18 mm × 180 mm), cho vào khoảng 15 mg chế phẩm hay một lượng theo chỉ dẫn trong chuyên luận và 0,15 ml *acid phosphoric* (TT). Đậy ống nghiệm bằng một nút có mang bên trong một ống nghiệm nhỏ hơn (kích thước 10 mm × 100 mm), ống nghiệm này chứa nước để làm sinh hàn. Cho một giọt *dung dịch lanthan nitrat 5 %* (TT) bám vào thành đáy ngoài của ống nghiệm nhỏ (sao cho giọt thuốc thử này không bị rơi xuống ống nghiệm chứa chế phẩm trong suốt quá trình thí nghiệm, nếu rơi phải làm lại thí nghiệm từ đầu). Đặt thiết bị trong cách thủy sôi 5 phút (trừ trường hợp chế phẩm khó thủy phân), sau đó lấy ống nghiệm nhỏ ra, gạt chất lỏng thu được ở đáy ngoài ống nghiệm vào một tấm sứ trắng đã chứa sẵn 0,05 ml *dung dịch iod 0,02 N* (TT), thêm vào cạnh đó 0,05 ml *dung dịch amoniac 2 M* (TT). Sau 1 phút đến 2 phút, ở vòng tiếp xúc giữa hai dung dịch xuất hiện màu xanh lam dần dần thẫm lên và bền trong một thời gian ngắn.

Đối với các chế phẩm khó thủy phân, tiến hành theo chỉ dẫn ở trên, nhưng đun hỗn hợp từ từ tới sôi trên ngọn lửa, thay cho việc đun trong cách thủy.

Alcaloid

Hòa tan vài mg chế phẩm hoặc một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận trong 5 ml *nước*, thêm *dung dịch acid hydrocloric 2 M* (TT) đến khi có phản ứng acid, thêm 1 ml *thuốc thử Dragendorff* (TT), xuất hiện tủa màu cam hay đỏ cam.

✓ **Amin thơm bậc nhất**

Acid hóa một lượng dung dịch chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M* (TT) hoặc hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M* (TT). Thêm 0,2 ml *dung dịch natri nitrit 10 %* (TT), sau 1 đến 2 phút thêm 1 ml *dung dịch 2-naphthol trong kiềm* (TT). Hỗn hợp có màu cam thẫm hay màu đỏ và thường có tủa cùng màu.

Amoni (muối)

A. Hòa tan khoảng 0,2 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc lấy một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT), đun nóng, sẽ xông ra khí có mùi đặc biệt và làm xanh giấy quỳ đỏ đã thấm nước.

B. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* hay một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 0,2 ml *thuốc thử Nessler* (TT), hỗn hợp có màu vàng hay tủa vàng nâu.

Arseniat

A. Đun cách thủy 5 ml dung dịch chế phẩm 5 % hoặc 5 ml dung dịch chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận với cùng thể tích *dung dịch hypophosphit* (TT) (thuốc thử Tilé), sẽ cho tủa màu nâu.

B. Hòa tan khoảng 0,10 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc lấy 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 2 %* (TT) sẽ tạo thành tủa màu nâu đỏ, tủa này tan khi thêm một lượng *acid nitric loãng* (TT) hoặc một lượng *dung dịch amoniac* (TT).

C. Hòa tan khoảng 0,20 g chế phẩm trong 5 ml *nước* hoặc lấy 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 5 ml *dung dịch amoni clorid* (TT), 1 ml *dung dịch amoniac* (TT) và vài giọt *dung dịch magnesi sulfat 5 %* (TT) sẽ cho tủa kết tinh trắng.

Arsenit

A. Phản ứng A trong mục arseniat.

B. Hòa tan khoảng 0,10 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc lấy 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 2 %* (TT) sẽ tạo thành tủa màu trắng hơi vàng, tủa này tan khi thêm một lượng *dung dịch amoniac* (TT) hoặc một lượng *acid nitric loãng* (TT).

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước*, hoặc lấy 2 ml dung dịch chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 1 ml *dung dịch đồng sulfat* (TT), tủa màu xanh lục sẽ được tạo thành, tách tủa và đun với *dung dịch natri hydroxyd* (TT), tủa sẽ chuyển thành màu nâu đỏ.

Bạc (muối)

A. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* hoặc lấy một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 3 giọt *dung dịch acid hydrocloric 10 %* (TT) sẽ xuất hiện tủa trắng lớn nhỏ, tủa này không tan trong *dung dịch acid nitric loãng* (TT) nhưng tan trong *dung dịch amoniac 6 M* (TT).

B. Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* hoặc lấy một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 2 ml *dung dịch amoniac 6 M* (TT) và vài giọt *formaldehyd* (TT), đun nóng dung dịch sẽ có tủa bạc kim loại bám vào thành ống nghiệm (phản ứng tráng gương).

Barbiturat

A. Lấy khoảng 5 mg chế phẩm, hòa tan trong 3 ml *dung dịch cobalt (II) acetat 0,2 % trong methanol (TT)*, thêm 20 mg đến 30 mg *natri tetraborat (TT)* đã được tán mịn, đun sôi sẽ xuất hiện màu xanh tím.

B. Barbiturat có hydro ở nhóm NH không bị thay thế: Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 3 ml *methanol (TT)*, thêm 0,1 ml *dung dịch có chứa 10 % cobalt (II) nitrat (TT)* và 10 % *calci clorid (TT)*. Trộn đều, vừa lắc vừa thêm 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* sẽ xuất hiện màu và tủa xanh tím.

Bari (muối)

A. Lấy một lượng *dung dịch muối bari* như chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm vài giọt *acid sulfuric loãng (TT)* sẽ xuất hiện tủa trắng, tủa này không tan trong *dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT)* và *acid nitric loãng (TT)*.

B. Dùng một dây bạch kim hoặc đũa thủy tinh lấy một lượng chất thử đốt trên ngọn lửa không màu, ngọn lửa sẽ nhuộm thành màu xanh lục hơi vàng, khi nhìn qua kính thủy tinh màu lục ngọn lửa sẽ có màu xanh lam.

Benzoat

A. Lấy 1 ml *dung dịch trung tính 10 % chế phẩm trong nước* hoặc một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 0,5 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* sẽ xuất hiện tủa màu vàng thẫm, tủa này tan trong *ether (TT)*.

B. Lấy khoảng 0,2 g chế phẩm hoặc một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận vào một ống nghiệm, làm ẩm bằng 0,2 ml đến 0,3 ml *acid sulfuric (TT)* và đun nóng nhẹ ở đáy ống nghiệm, sẽ có tinh thể màu trắng thăng hoa bám ở thành trong của ống.

C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml *nước* hoặc dùng 10 ml *dung dịch* theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 0,5 ml *acid hydrochloric (TT)*, sẽ cho tủa. Kết tinh lại tủa trong nước ấm rồi làm khô dưới áp suất giảm, tủa thu được có nhiệt độ nóng chảy từ 120 °C đến 124 °C (Phụ lục 6.7).

Bismuth (muối)

A. Thêm 10 ml *dung dịch acid hydrochloric 10 % (TT)* vào 0,5 g chế phẩm hoặc dùng 10 ml *dung dịch* theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Đun sôi trong 1 phút, để nguội rồi lọc nếu cần. Thêm 20 ml *nước* vào 1 ml *dung dịch* thu được ở trên, xuất hiện tủa trắng hay hơi vàng, tủa này sẽ chuyển thành nâu khi thêm 0,05 ml đến 0,1 ml *dung dịch natri sulfid (TT)*.

B. Thêm 10 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* vào 40 mg đến 50 mg chế phẩm hoặc dùng 10 ml chế phẩm đã được xử lý theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Đun sôi trong 1 phút, để nguội rồi lọc nếu cần. Thêm 2 ml *dung dịch thioure 10 % (TT)* vào 5 ml dịch lọc thu được ở trên, xuất hiện màu vàng da cam hay tủa da cam. Thêm 4 ml *dung dịch natri fluorid 2,5 % (TT)*, *dung dịch* không được mất màu trong vòng 30 phút.

Borat

A. Hòa tan khoảng 0,1 g chế phẩm vào 0,1 ml *acid sulfuric (TT)* trong một chén sứ, thêm 3 ml *methanol (TT)*, trộn đều rồi châm lửa vào hỗn hợp, hỗn hợp cháy với ngọn lửa màu lục.

B. Lấy 5 ml *dung dịch chế phẩm 10 %*, thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng (TT)* và 0,5 ml *cồn nghệ (TT)*, sẽ cho màu nâu; thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, màu nâu chuyển thành lam hay lục.

Bromid

A. Hòa tan một lượng chế phẩm có chứa khoảng 3 mg ion bromid trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml *dung dịch* theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hóa bằng *acid nitric loãng (TT)* và thêm 0,4 ml *dung dịch bạc nitrat 4 % (TT)*. Lắc và để yên, có tủa màu vàng nhạt lờn nổi tạo thành. Lọc lấy tủa, rửa tủa ba lần, mỗi lần với 1 ml *nước*. Phân tán tủa trong 2 ml *nước*, thêm 1,5 ml *dung dịch amoniac 10 M (TT)*, tủa khó tan.

B. Hòa tan một lượng chế phẩm có chứa khoảng 5 mg ion bromid trong 2 ml *nước* hoặc lấy một lượng *dung dịch* theo chỉ dẫn trong chuyên luận, acid hóa *dung dịch* bằng *acid sulfuric loãng (TT)*, thêm 1 ml *nước clor (TT)* và 2 ml *cloroform (TT)*, lắc. Lóp cloroform sẽ có màu đỏ đến màu nâu đỏ.

Carbonat và hydrocarbonat

A. Cho vào ống nghiệm khoảng 0,1 g chế phẩm, thêm 2 ml *nước* hoặc lấy 2 ml *dung dịch chế phẩm* đã được chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 2 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*. Đậy ngay nút đã lắp sẵn một ống thủy tinh nhỏ uốn góc. Đun nhẹ ống nghiệm, khí thoát ra được dẫn vào một ống nghiệm khác có chứa sẵn 5 ml *dung dịch bão hòa calci hydroxyd (TT)*, sao cho đầu ống thủy tinh nhỏ phải ngập trong *dung dịch* này, tủa trắng tạo thành, tủa này tan trong *acid hydrochloric (TT)* quá thừa.

B. Cho vào ống nghiệm khoảng 0,1 g chế phẩm, thêm 2 ml *nước* hoặc lấy 2 ml *dung dịch chế phẩm* đã được chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 2 ml *dung dịch magnesi sulfat (TT)*, nếu là carbonat sẽ cho tủa trắng, nếu là hydrocarbonat sẽ không tạo tủa nhưng khi đun sôi cũng cho tủa trắng.

Calci (muối)

A. Lấy khoảng 20 mg chế phẩm hoặc một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận, hòa tan trong 5 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)*, thêm 0,5 ml *dung dịch kali ferocyanid (TT)*, *dung dịch* vẫn trong, thêm khoảng 50 mg *amoni clorid (TT)*, tạo thành tủa kết tinh trắng.

B. Thêm vào *dung dịch chế phẩm* theo chỉ dẫn trong chuyên luận vài giọt *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)*, tạo thành tủa trắng, tủa này ít tan trong *dung dịch acid acetic 6 M (TT)*, nhưng tan trong *acid hydrochloric (TT)*.

Chì (muối)

A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 1 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)* hoặc lấy 1 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 2 ml *dung dịch kali cromat 5 % (TT)*, tựa vàng sẽ tạo thành, tựa này tan trong *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*.

B. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 1 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)* hoặc 1 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 10 ml *nước* và 0,2 ml *dung dịch kali iodid 10 % (TT)*, tựa màu vàng sẽ tạo thành; đun sôi 1 đến 2 phút cho tựa tan ra, để nguội, tựa lại xuất hiện có dạng những mảnh vàng lấp lánh.

Citrat

A. Hòa tan khoảng 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước*, nếu cần có thể trung tính hóa dung dịch bằng *amoniac (TT)*, hoặc dùng một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch calci clorid 10 % (TT)*, dung dịch vẫn trong. Đun sôi dung dịch sẽ xuất hiện tựa trắng, tựa này tan trong *dung dịch acid acetic 6 M (TT)*.

B. Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với khoảng 50 mg acid citric trong 5 ml *nước* hoặc lấy 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)*, 1 ml *dung dịch kali permanganat (TT)* và đun nóng đến khi mất màu. Thêm 0,5 ml *dung dịch natri nitroprusiat 10 % trong acid sulfuric 1 M*, 4 g *acid sulfamic (TT)* và từng giọt *amoniac (TT)* đến khi acid sulfamic tan hết, khi cho thừa amoniac, xuất hiện màu tím chuyển dần thành xanh tím.

Clorat

A. Thêm vài giọt *acid sulfuric (TT)* vào 0,1 g chế phẩm, có tiếng nổ lép bép và khí màu vàng lục bay ra.

B. Hòa tan khoảng 0,05 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 0,5 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*, không xuất hiện tựa. Khi thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch natri nitrit (TT)* và 2 giọt đến 3 giọt *acid nitric loãng (TT)*, sẽ có tựa trắng tạo thành, tựa này tan trong *dung dịch amoniac 6 M (TT)*.

Clorid

A. Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 2 mg ion clorid trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hóa bằng *dung dịch acid nitric 2 M (TT)*, thêm 0,4 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*. Lắc và để yên, có tựa màu trắng, lờn nhón tạo thành. Lọc lấy tựa, rửa tựa 3 lần, mỗi lần với 1 ml *nước*, phân tán tựa trong 2 ml *nước* và thêm 1,5 ml *dung dịch amoniac 10 M*, tựa tan dễ dàng.

B. Cho vào ống nghiệm một lượng chế phẩm tương ứng khoảng từ 10 đến 20 mg ion clorid hay một lượng theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *kali permanganat 5 % (TT)* và 1 ml *acid sulfuric (TT)*, đun nóng, sẽ giải phóng khí clor có mùi đặc biệt, khí

này làm xanh *giấy tím hồ tinh bột có kali iodid (TT)* đã thấm nước.

Đồng (muối)

A. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm vài giọt *dung dịch kali ferocyanid (TT)*, sẽ có tựa màu nâu đỏ không tan trong *acid acetic (TT)*.

B. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm vài giọt *dung dịch amoniac (TT)*, sẽ có tựa màu xanh, tựa này tan trong thuốc thử quá thừa tạo thành dung dịch màu xanh lam thẫm.

Ester

Lấy khoảng 30 mg chế phẩm, hoặc một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 0,5 ml dung dịch chứa 7 % *hydroxylamin hydroclorid (TT)* trong *methanol (TT)* và 0,5 ml *dung dịch kali hydroxyd 10 % trong ethanol (TT)*. Đun sôi, để nguội, acid hóa dung dịch bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, rồi thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 1 %*, sẽ xuất hiện màu đỏ hay màu đỏ có ánh lam.

Iodid

A. Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng khoảng 4 mg ion iodid trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hóa bằng *dung dịch acid nitric 2 M (TT)*, thêm 0,4 ml *dung dịch bạc nitrat 4 % (TT)*. Lắc và để yên, có tựa màu vàng nhạt, lờn nhón tạo thành. Lọc lấy tựa, rửa tựa 3 lần, mỗi lần với 1 ml *nước*. Phân tán tựa trong 2 ml *nước*, thêm 1,5 ml *dung dịch amoniac 10 M (TT)*, tựa không tan.

B. Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 4 mg ion iodid trong 2 ml *nước*, hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 3 % (TT)*, 2 giọt *acid hydrocloric (TT)*, 1 ml *cloroform (TT)* và lắc, để yên. Lớp cloroform có màu tím.

Kali (muối)

A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)* rồi đun nóng, không tạo thành tựa. Thêm vào trong lúc nóng 0,05 ml *dung dịch natri sulfid (TT)*, không tạo thành tựa. Làm nguội trong nước đá và thêm 1,5 ml *dung dịch acid tartaric 20 % (TT)* và để yên, tạo thành tựa kết tinh màu trắng.

B. Hòa tan khoảng 40 mg chế phẩm trong 1 ml *nước* hoặc dùng 1 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và 1 ml *dung dịch natri cobaltinitrit 10 % (TT)* mới pha, tạo thành tựa màu vàng hay da cam.

Kẽm (muối)

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml nước hoặc dùng 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT), tạo thành tủa trắng, tủa này tan khi tiếp tục thêm 2 ml natri hydroxyd 10 M (TT). Thêm 10 ml dung dịch amoni clorid 10 % (TT), dung dịch vẫn trong, thêm 0,1 ml dung dịch natri sulfid (TT), tủa bông trắng được tạo thành.

Lactat

Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng khoảng 5 mg acid lactic trong 5 ml nước, hoặc lấy 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml nước brom (TT) và 0,5 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT). Đun trong cách thủy đến khi mất màu, thỉnh thoảng khuấy bằng đũa thủy tinh. Thêm 4 g amoni sulfat (TT) và trộn đều. Thêm từng giọt theo thành ống 0,2 ml dung dịch có chứa 10 % natri nitroprusiat (TT) trong acid sulfuric 1 M (chú ý không trộn) và 1 ml amoniac đậm đặc (TT). Để yên 30 phút, sẽ xuất hiện một vòng màu lục giữa bề mặt của hai chất lỏng.

Magnesi (muối) X

Hòa tan khoảng 15 mg chế phẩm trong 2 ml nước hoặc lấy 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml dung dịch amoniac 6 M (TT), tạo thành tủa trắng, tủa này tan khi thêm 1 ml dung dịch amoni clorid (TT). Thêm 1 ml dung dịch dinatri hydrophosphat 9 %, sẽ có tủa kết tinh màu trắng.

Natri (muối)

A. Dùng một dây bạch kim hay đũa thủy tinh, lấy một hạt chất thử hay một giọt dung dịch chế phẩm, đưa vào ngọn lửa không màu, ngọn lửa sẽ nhuộm thành màu vàng.

B. Hòa tan khoảng 50 mg chế phẩm trong 2 ml nước hoặc lấy 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hóa dung dịch bằng acid acetic loãng (TT), thêm 1 ml dung dịch magnesi uranyl acetat (TT), cọ thành ống nghiệm bằng một đũa thủy tinh nếu cần, sẽ có tủa kết tinh màu vàng.

Nhôm (muối)

Hòa tan khoảng 0,1 g chế phẩm trong 2 ml nước hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm từng giọt dung dịch amoniac (TT) cho tới khi tạo tủa keo trắng, tủa này chuyển thành đỏ khi thêm vài giọt dung dịch alizarin S (TT).

Nitrat

A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml nước hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm từ từ 2 ml acid sulfuric (TT), trộn và để nguội. Cho cẩn thận (không trộn) dọc theo thành ống nghiệm 1 ml dung dịch sắt (II) sulfat 1,5 % (TT). Ở miền tiếp giáp giữa hai chất lỏng có một vòng màu nâu.

B. Trộn 0,1 ml nitrobenzen (TT) với 0,2 ml acid sulfuric (TT), thêm một lượng chế phẩm đã tán nhỏ tương ứng với khoảng 1 mg ion nitrat hoặc một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, để yên 5 phút, làm lạnh trong nước đá vài phút, vừa lắc vừa thêm từ từ 5 ml nước, sau đó 5 ml dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT) và 5 ml aceton (TT), lắc rồi để yên. Lớp chất lỏng ở trên có màu tím thẫm.

Oxalat

A. Hòa tan khoảng 0,1 g chế phẩm trong 5 ml nước hoặc dùng 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,5 ml dung dịch calci clorid 10 % (TT), tủa màu trắng tạo thành, tủa tan trong acid vô cơ, không tan trong dung dịch acid acetic 6 M (TT).

B. Hòa tan khoảng 0,1 g chế phẩm trong 5 ml nước hoặc dùng 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hóa dung dịch bằng dung dịch acid sulfuric 10 % (TT), dung dịch này sẽ làm mất màu dung dịch kali permanganat 5 % (TT) khi đun nóng.

Peroxyd

A. Nhỏ 1 giọt dung dịch chế phẩm vào 10 ml dung dịch acid sulfuric 2 % (TT), thêm 2 ml ether (TT) và 1 giọt dung dịch kali dicromat 5 % (TT), lắc, lớp ether có màu xanh.

B. Lấy 1 ml dung dịch chế phẩm, acid hóa nhẹ bằng dung dịch acid sulfuric 10 % (TT), thêm từng giọt dung dịch kali iodid (TT), sẽ giải phóng iod, làm xanh hồ tinh bột (TT).

Phosphat

A. Hòa tan khoảng 50 mg chế phẩm trong 3 ml nước hoặc dùng 3 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hóa dung dịch bằng acid nitric loãng (TT), thêm 2 ml dung dịch amoni molybdat (TT) sẽ hiện tủa màu vàng.

B. Hòa tan khoảng 0,1 g chế phẩm trong 2 ml nước hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Trung tính hóa dung dịch bằng dung dịch acid nitric loãng (TT) hoặc dung dịch natri hydroxyd (TT). Thêm 1 ml dung dịch bạc nitrat 4 % (TT) sẽ tạo tủa màu vàng, màu của tủa không thay đổi khi đun sôi, tủa tan khi thêm dung dịch amoniac 10 M (TT).

Salicylat

A. Lấy 1 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,5 ml dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT), xuất hiện màu tím, màu không bị mất khi thêm 0,1 ml dung dịch acid acetic 5 M (TT).

B. Hòa tan khoảng 0,5 g chế phẩm trong 10 ml nước hoặc dùng 10 ml dung dịch theo chỉ dẫn của chuyên luận. Thêm 0,5 ml acid hydrocloric (TT), sẽ xuất hiện tủa kết tinh màu trắng. Lọc lấy tủa, rửa tủa bằng nước đến phản ứng trung tính với giấy quỳ và làm khô

trong bình hút ẩm có chứa *acid sulfuric* (TT). Nhiệt độ nóng chảy của tủa từ 156 °C đến 161 °C (Phụ lục 6.7).

Sắt (II) (muối)

Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 10 mg sắt (II) trong 1 ml *nước*, hoặc dùng 1 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch kali fericyanid 5 %* (TT), tủa màu xanh lam tạo thành, tủa này không tan trong *dung dịch acid hydrochloric 2 M* (TT).

Sắt (III) (muối)

A. Hòa tan một lượng chế phẩm có chứa khoảng 0,1 mg sắt (III) trong 3 ml *nước* hoặc dùng 3 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch acid hydrochloric 2 M* (TT) và 1 ml *dung dịch kali thiocyanat* (TT), dung dịch có màu đỏ. Dùng 2 ống nghiệm, cho vào mỗi ống 1 ml dung dịch thu được ở trên. Một ống cho thêm 5 ml *alcol amylic* (TT) hoặc *ether* (TT), lắc và để yên, lớp dung môi có màu hồng. Cho vào ống nghiệm kia 3 ml *dung dịch thủy ngân (II) clorid 5 %* (TT), màu đỏ sẽ biến mất.

B. Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 1 mg sắt (III) trong 1 ml *nước* hoặc dùng 1 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch kali ferocyanid* (TT), tủa màu xanh lam tạo thành, tủa này không tan trong *dung dịch acid hydrochloric 2 M* (TT).

Silicat

Trong một chén nung bằng chì hay bằng bạch kim, dùng một sợi dây đồng trộn đều một lượng chất để thử với 10 mg *natri fluorid* (TT) và 0,2 ml *acid sulfuric đậm đặc* (TT). Đặt chén bằng một nắp nhựa dẻo trong, mỏng; dưới nắp nhựa có một giọt nước. Đun nóng nhẹ, sẽ thấy xuất hiện một vòng màu trắng xung quanh giọt nước.

Stibi (antimony, hợp chất)

Hòa tan bằng cách đun nóng nhẹ khoảng 10 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri kali tartrat 5 %* và để nguội. Lấy 2 ml dung dịch này hoặc 2 ml dung dịch chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận, nhỏ vào đó từng giọt *dung dịch natri sulfid* (TT), tủa màu đỏ cam tạo thành, tủa này sẽ tan khi thêm *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT).

X Sulfat

(A.) Hòa tan 45 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* hoặc dùng 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 1 ml *dung dịch acid hydrochloric 2 M* (TT) và 1 ml *dung dịch bari clorid 5 %* (TT), sẽ có tủa màu trắng tạo thành.

B. Thêm 0,1 ml *dung dịch iod 0,1 N* vào hỗn dịch thu được ở phản ứng trên, hỗn dịch có màu vàng (phân biệt với sulfit và dithionit) nhưng mất màu khi thêm từng giọt *dung dịch thiếc (II) clorid* (TT) (phân biệt

với iodat). Đun sôi hỗn hợp, không được tạo thành tủa có màu (phân biệt với selenat và tungstat).

Sulfid

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch acid hydrochloric 10 %* (TT), khí bay ra có mùi của hydrosulfid, khí này sẽ làm nâu hoặc đen giấy tẩm *dung dịch chì acetat* (TT) đã thấm nước.

Bisulfit và sulfit

A. Hòa tan khoảng 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 10 %* (TT). Đun nóng nhẹ, sẽ có khí lưu huỳnh dioxyd bay ra và làm đen giấy tẩm *dung dịch thủy ngân (II) nitrat* (TT).

B. Nhỏ từng giọt *dung dịch iod 0,1 N* (TT) vào dung dịch chế phẩm, màu của dung dịch iod sẽ mất.

Tartrat

A. Hòa tan khoảng 15 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* hoặc dùng 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,05 ml *dung dịch sắt (II) sulfat 1 %* và 0,05 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 10 tt* (TT); màu vàng không bền vững được tạo thành, sau khi màu vàng biến mất, thêm từng giọt *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT), xuất hiện màu tím hay đỏ tía.

B. Lấy 0,1 ml dung dịch chế phẩm chứa khoảng 15 mg acid tartric trong 1 ml hoặc dùng 0,1 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,1 ml *dung dịch kali bromid 10 %* (TT), 0,1 ml *dung dịch resorcin 2 %* (TT) và 3 ml *acid sulfuric* (TT). Đun trên cách thủy 5 đến 10 phút sẽ xuất hiện màu xanh lam thẫm. Để nguội và rót dung dịch vào nước, màu chuyển thành đỏ.

Thiosulfat

A. Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm vài giọt *dung dịch iod 0,1 N*, màu của iod biến mất.

B. Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm vài giọt *dung dịch acid hydrochloric 10 %* (TT), có tủa màu trắng dần chuyển thành màu vàng và có khí lưu huỳnh dioxyd bay ra làm đen giấy tẩm *dung dịch thủy ngân (II) nitrat* (TT).

C. Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 4 %* (TT), tủa màu trắng xuất hiện, chuyển nhanh sang màu vàng rồi dần dần sang màu đen.

Thủy ngân (muối)

A. Nhỏ 2 giọt đến 3 giọt dung dịch thử lên một miếng *phôi đồng* (TT) đã được cọ sạch, sẽ xuất hiện vết hoen

màu xám tối; vết này sáng ra khi được lau nhẹ. Đốt nóng phôi đồng đỏ trong ống nghiệm thì vết hoen sẽ mất.

B. Hòa tan khoảng 0,10 g chế phẩm trong 2 ml nước, nếu là thủy ngân oxyd thì hòa tan trong 2 ml dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT), hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm từng giọt dung dịch kali iodid (TT) sẽ cho tủa màu đỏ, tủa tan trong thuốc thử quá thừa [(đối với muối thủy ngân (II)].

Nếu là muối thủy ngân (I), khi thêm từng giọt dung dịch kali iodid (TT) sẽ cho tủa màu vàng, sau đó chuyển sang màu lục.

Nhóm xanthin

Trộn vài mg chế phẩm hoặc lấy một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận với 0,1 ml hydrogen peroxyd 100 tt (TT) và 0,3 ml dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT), đun trên cách thủy tới khô, sẽ có cặn màu đỏ hơi vàng, thêm 0,1 ml dung dịch amoniac 2 M (TT), màu của cặn sẽ chuyển thành tím đỏ.

8.2 ĐỊNH TÍNH CÁC PENICILIN

Phương pháp sắc ký lớp mỏng

Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng, bản mỏng (pha tĩnh) là silicagel H đã được silan hoá.

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch sau:

Dung dịch 1: Dung dịch thử.

Dung dịch 2 và 3: Các dung dịch có chứa các chất đối chiếu tương ứng trong Bảng 8.2.

Bảng 8.2- Định tính các penicilin bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng

Tên mẫu	Dung môi để hoà tan	Nồng độ %	Chất đối chiếu trong dung dịch 2	Chất đối chiếu trong dung dịch 3	Pha động	Yêu cầu đối với phép thử
Amoxycilin natri	A	0,25	Amoxycilin trihydrat	Amoxycilin trihydrat + Ampicilin trihydrat	B	A
Amoxycilin trihydrat	A	0,25	Amoxycilin trihydrat	Amoxycilin trihydrat + Ampicilin trihydrat	B	A
Ampicilin	A	0,25	Ampicilin khan	Ampicilin khan + Amoxycilin trihydrat	B	A
Ampicilin natri	A	0,25	Ampicilin trihydrat	Ampicilin trihydrat + Amoxycilin trihydrat	B	A
Ampicilin trihydrat	A	0,25	Ampicilin trihydrat	Ampicilin trihydrat + Amoxycilin trihydrat	B	A
Benzathin penicillin	C	0,5	Benzathin benzyl-penicillin		A*	B
Benzylpenicilin kali	D	0,5	Benzylpenicilin kali	Benzylpenicilin kali + Phenoxyethylpenicilin kali	A	A
Benzylpenicilin natri	D	0,5	Benzylpenicilin natri	Benzylpenicilin natri + Phenoxyethylpenicilin kali	A	A
Cloxacilin natri	D	0,5	Cloxacilin natri	Cloxacilin natri + Dicloxacilin natri + Flucloxacilin natri	A	C
Dicloxacilin natri	D	0,5	Dicloxacilin natri	Cloxacilin natri + Dicloxacilin natri + Flucloxacilin natri	A	C
Flucloxacilin natri	D	0,5	Flucloxacilin natri	Cloxacilin natri + Dicloxacilin natri + Flucloxacilin natri	A	C
Phenoxyethylpenicilin	E*	0,5	Phenoxyethylpenicilin	Phenoxyethylpenicilin kali + Benzylpenicilin kali	A	A

Phenoxymethylpenicilin kali	D	0,5	Phenoxymethylpenicilin kali	Phenoxymethylpenicilin kali + Benzylpenicilin kali	A	A
Procain penicilin	E	0,5	Procain benzylpenicilin		A*	B

Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ngoài không khí, đặt bản mỏng vào bình có hơi iod cho đến khi xuất hiện các vết. Quan sát các vết dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ, vết chính thu được của dung dịch (1) phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết thu được của dung dịch (2). Đối với benzathin penicilin và procain penicilin, dung dịch 1 phải có 2 vết chính tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với 2 vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch 2. Phép thử chỉ có giá trị khi đạt các yêu cầu được chỉ ra trong Bảng 8.2.

Các hệ dung môi khai triển (Pha động)

A: Hỗn hợp của *dung dịch amoni acetat 15,4 % (TT)* và *aceton (TT)* (70 : 30), được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *acid acetic khan (TT)* nếu như không có các chỉ dẫn khác trong bảng [A* : Điều chỉnh pH của pha động tới 7,0 bằng *amoniac (TT)*].

B: Hỗn hợp của *dung dịch amoni acetat 15,4 % (TT)* và *aceton (TT)* (90 : 10) được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *acid acetic khan (TT)*.

Dung môi

A : Dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 %.

B: Hỗn hợp aceton - methanol (1 : 1).

C: Methanol.

D: Nước.

E: Aceton (E* : Dùng nước là dung môi cho dung dịch 3)

Yêu cầu đối với phép thử

A: Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch (3) tách ra 2 vết rõ ràng, riêng biệt.

B: Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch (2) tách ra 2 vết rõ ràng, riêng biệt.

C: Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch (3) tách ra 3 vết rõ ràng, riêng biệt.

8.3 PHẢN ỨNG MÀU CỦA CÁC PENICILIN VÀ CEPHALOSPORIN

A. Cho 2 mg chế phẩm vào một ống nghiệm (kích thước 15 cm × 1,5 cm), làm ẩm với 0,05 ml nước, thêm 2 ml acid sulfuric (TT). Lắc đều hỗn hợp và quan sát màu của dung dịch. Đặt ống nghiệm trong cách thủy sôi trong một phút và lại quan sát màu. Dung dịch có màu tương ứng trong Bảng 8.3.

B. Lập lại cách thử như phản ứng A, nhưng thay 2 ml acid sulfuric (TT) bằng 2 ml dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT). Dung dịch có màu tương ứng trong Bảng 8.3.

Bảng 8.3 - Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin

Tên mẫu	Acid sulfuric (TT)	Acid sulfuric (TT) sau 1 phút ở 100°C	Dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT)	Dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT) sau 1 phút ở 100 °C
Amoxicilin natri			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Amoxicilin trihydrat			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Ampicilin			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Ampicilin natri			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Ampicilin trihydrat			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Benzathin penicilin			Hầu như không màu	Nâu đỏ
Benzylpenicilin kali			Hầu như không màu	Nâu đỏ
Benzylpenicilin natri			Hầu như không màu	Nâu đỏ
Cefaclor			Hầu như không màu	Vàng nâu
Cefadroxil			Vàng	Da cam
Cefixim			Vàng	Da cam
Cefotaxim natri			Vàng sáng	Nâu
Cefradin			Vàng nhạt	Vàng sẫm
Cephalexin			Vàng nhạt	Vàng sẫm
Cephaloridin	Vàng nhạt	Hầu như không màu	Đỏ	Đỏ nâu
Cephalothin natri	Vàng (màu chuyển nhanh)	Hồng nâu	Đỏ	Đỏ nâu
Cloxacilin natri			Vàng xanh lá nhạt	Vàng
Dicloxacilin natri			Vàng xanh lá nhạt	Vàng
Flucloxacilin natri			Vàng xanh lá nhạt	Vàng
Phenoxymethyl penicilin			Nâu đỏ	Nâu đỏ sẫm
Phenoxymethyl penicilin kali			Nâu đỏ	Nâu đỏ sẫm
Procain penicilin	Hầu như không màu	Hầu như không màu	Hầu như không màu	Nâu đỏ

PHỤ LỤC 9

9.1 ỚNG NGHIỆM DÙNG TRONG CÁC PHÉP THỬ SO SÁNH

Ống Nessler

Khi các phép thử yêu cầu sử dụng ống Nessler thì các ống Nessler được sử dụng phải đạt các yêu cầu sau: Ống Nessler phải đạt các yêu cầu về tiêu chuẩn của ống Nessler do nhà sản xuất đưa ra. Ống được làm từ thủy tinh trung tính trong suốt và có thể tích danh định 50 ml. Chiều cao của ống khoảng 15 cm, chiều cao đo bên ngoài ống từ đáy đến vạch 50 ml là 11,0 cm đến 12,4 cm, độ dày của thành ống từ 1,0 mm đến 1,5 mm, độ dày của đáy ống từ 1,0 mm đến 3,0 mm. Chiều cao đo bên ngoài ống từ đáy đến vạch 50 ml đối với các ống dùng trong một phép thử không được sai khác quá 1 mm.

Ống nghiệm dùng cho các phép thử so sánh

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, các ống nghiệm dùng trong các phép thử so sánh là những ống thích hợp được làm bằng thủy tinh không màu, có đường kính trong đồng nhất. Đáy trong suốt và phẳng. Khi quan sát, nhìn cột chất lỏng theo trục thẳng đứng từ trên xuống trên nền trắng hoặc nền đen (nếu cần thiết) dưới ánh sáng khuếch tán ban ngày.

Thường dùng những ống có đường kính trong 16 mm. Có thể dùng những ống đường kính lớn hơn nhưng thể tích chất lỏng đem thử phải tăng lên sao cho chiều cao của lớp chất lỏng không thấp hơn chiều cao của lớp chất lỏng khi thử bằng những ống có đường kính trong bằng 16 mm.

9.2 XÁC ĐỊNH ĐỘ TRONG CỦA DUNG DỊCH

Độ trong của các dung dịch được xác định bằng cách so sánh các dung dịch đó với các hỗn dịch đối chiếu.

Dung dịch hydrazin sulfat: Hòa tan 1,0 g *hydrazin sulfat* (TT) trong *nước*, pha loãng với nước thành 100,0 ml và để yên trong thời gian 4 giờ đến 6 giờ.

Dung dịch hexamethylentetramin: Trong một bình nón thủy tinh nút mài dung tích 100 ml, hòa tan 2,5 g hexamethylentetramin trong 25,0 ml *nước*.

Hỗn dịch đục gốc

Thêm 25,0 ml *dung dịch hydrazin sulfat* (TT) vào 25,0 ml dung dịch hexamethylentetramin, lắc kỹ và để yên trong 24 giờ.

Nếu được bảo quản trong lọ thủy tinh tốt (không có khuyết tật ở bề mặt) thì hỗn dịch đục gốc bền vững trong

vòng 2 tháng. Hỗn dịch này phải không được bám dính vào thủy tinh và phải được lắc kỹ trước khi dùng.

Chuẩn đục: Pha loãng 15,0 ml hỗn dịch đục gốc thành 1000,0 ml với *nước*.

Chuẩn đục được chuẩn bị ngay trước khi dùng và có thể bảo quản tối đa trong vòng 24 giờ.

Hỗn dịch đối chiếu

Các hỗn dịch đối chiếu từ I tới IV được chuẩn bị như chỉ dẫn trong Bảng 9.2.

Mỗi hỗn dịch phải được trộn kỹ và lắc trước khi sử dụng.

Bảng 9.2

	I	II	III	IV
Chuẩn đục (ml)	5,0	10,0	30,0	50,0
Nước	95,0	90,0	70,0	50,0

Cách thử

Việc so sánh được tiến hành trong các ống nghiệm giống nhau, bằng thủy tinh trung tính, trong, không màu, đáy bằng, có đường kính trong khoảng từ 15 mm đến 25 mm. Chiều dày của lớp dung dịch thử và của hỗn dịch đối chiếu là 40 mm. Hỗn dịch đối chiếu sau khi pha 5 phút phải được so sánh ngay với dung dịch cần thử bằng cách quan sát chất lỏng từ trên xuống trong các ống nghiệm trên nền đen dưới ánh sáng khuếch tán ban ngày. Ánh sáng khuếch tán phải phù hợp để có thể phân biệt được hỗn dịch đối chiếu I với nước cất và với hỗn dịch đối chiếu II.

Cách đánh giá kết quả

Một chất lỏng được coi như trong nếu nó tương đương với độ trong của nước hay của dung môi đã dùng khi thử nghiệm trong những điều kiện như đã mô tả, hoặc nếu chất lỏng đó hơi đục nhẹ thì cũng không được đục quá hỗn dịch đối chiếu I.

Các yêu cầu khác nhau về độ đục được biểu thị theo hỗn dịch đối chiếu I, II, III, và IV.

9.3 XÁC ĐỊNH MÀU SẮC CỦA DUNG DỊCH

Việc xác định màu sắc của dung dịch trong phạm vi nâu - vàng - đỏ được tiến hành theo một trong hai phương pháp dưới đây, tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Một dung dịch được coi là không màu nếu nó giống như nước cất hay dung môi dùng để pha dung dịch đó, hoặc có màu không thâm hơn dung dịch màu đối chiếu N₉.

Phương pháp 1

Dùng những ống thủy tinh trung tính, không màu, trong suốt và giống hệt nhau, có đường kính ngoài 12 mm để so sánh 2,0 ml dung dịch thử với 2,0 ml *nước cất*, hoặc dung môi, hoặc dung dịch màu đối chiếu (Bảng 9.3.2a tới 9.3.2e) theo chỉ dẫn trong

chuyên luận. Quan sát màu của dung dịch theo chiều ngang ống nghiệm, dưới ánh sáng khuếch tán, trên nền trắng.

Phương pháp 2

Dùng những ống thủy tinh trung tính, đáy bằng, không màu, trong suốt, giống hệt nhau và có đường kính trong từ 15 mm đến 25 mm để so sánh lớp dung dịch thử có bề dày 40 mm với lớp chất lỏng có bề dày 40 mm của nước cất, hoặc dung môi, hoặc dung dịch màu đối chiếu (Bảng 9.3.2 a tới Bảng 9.3.2 e) theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Quan sát màu của dung dịch dọc theo trục ống, dưới ánh sáng khuếch tán trên nền trắng.

Pha chế các dung dịch gốc

Dung môi A: 25 ml *acid hydrochloric* (TT) hòa tan trong 975 ml *nước cất*.

Dung dịch gốc màu vàng: Hòa tan 46 g *sắt (III) clorid* (TT) trong dung môi A, cho vừa đủ dung môi A thành 1000 ml. Chuẩn độ rồi điều chỉnh bằng dung môi A để có dung dịch chứa 45 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ trong 1 ml. Bảo quản tránh ánh sáng.

Chuẩn độ: Cho vào một bình nón dung tích 250 ml có nút mài 10 ml dung dịch gốc màu vàng, 15 ml *nước*, 5 ml *acid hydrochloric* (TT) và 4 g *kali iodid* (TT). Đậy nút, lắc đều rồi để yên 15 phút ở chỗ tối. Thêm vào bình 100 ml *nước* và chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N* (CĐ), chỉ thị là 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột* (TT) cho vào lúc gần cuối chuẩn độ.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N* (CĐ) tương đương với 27,03 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Dung dịch gốc màu đỏ: Hòa tan 60 g *cobalt (II) clorid* (TT) trong dung môi A, cho vừa đủ dung môi A thành 1000 ml. Chuẩn độ, rồi điều chỉnh bằng dung môi A để có dung dịch chứa 59,5 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ trong 1 ml.

Chuẩn độ: Cho vào một bình nón dung tích 250 ml có nút mài 5 ml dung dịch gốc màu đỏ, 5 ml *nước oxy già* 10 thể tích và 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 30 %* (TT). Đun sôi nhẹ trong 10 phút, để nguội rồi thêm 60 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M* (TT) và 2 g *kali iodid* (TT). Đậy bình và lắc nhẹ cho tan tủa, chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N* (CĐ) với chỉ thị là 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột* (TT) cho vào lúc gần cuối chuẩn độ. Dung dịch chuyển thành màu hồng khi chuẩn độ đến điểm tương đương.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N* (CĐ) tương đương với 23,79 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Dung dịch gốc màu xanh: Hòa tan 63 g *đồng (II) sulfat* (TT) trong dung môi A, cho vừa đủ dung môi A thành 1000 ml. Chuẩn độ, rồi điều chỉnh bằng dung môi A để có dung dịch chứa 62,4 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ trong 1 ml.

Chuẩn độ: Cho vào một bình nón dung tích 250 ml có nút mài 10 ml dung dịch gốc màu xanh, 50 ml *nước*, 12 ml *dung dịch acid acetic 2 M* (TT) và 3 g *kali iodid*

(TT). Chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N* (CĐ) đến khi có màu nâu nhạt, chỉ thị là 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột* (TT) cho vào lúc gần cuối chuẩn độ.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N* (CĐ) tương đương với 24,97 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Pha chế các dung dịch màu chuẩn

Dùng 3 dung dịch gốc để pha 5 dung dịch màu chuẩn theo Bảng 9.3.1

Bảng 9.3.1 - Các dung dịch màu chuẩn

Dung dịch màu chuẩn	Dung dịch gốc (ml)			Dung dịch acid hydrochloric 1 % (kl/tt) (ml)
	Màu vàng	Màu đỏ	Màu xanh	
N (nâu)	30	30	24	16
VN (vàng nâu)	24	10	4	62
V (vàng)	24	6	0	70
VL (vàng lục)	96	2	2	0
Đ (đỏ)	10	20	0	70

Pha chế các dung dịch màu đối chiếu (dung dịch màu mẫu)

Dùng 5 dung dịch màu chuẩn pha các dung dịch màu đối chiếu theo các Bảng 9.3.2 a đến 9.3.2 e sau đây:

Bảng 9.3.2 a - Dung dịch màu đối chiếu N

Dung dịch màu đối chiếu	Dung dịch màu chuẩn N (ml)	Dung dịch acid hydrochloric 1 % (ml)
N ₁	75,0	25,0
N ₂	50,0	50,0
N ₃	37,5	62,5
N ₄	25,0	75,0
N ₅	12,5	87,5
N ₆	5,0	95,0
N ₇	2,5	97,5
N ₈	1,5	98,5
N ₉	1,0	99,0

Bảng 9.3.2 b - Dung dịch màu đối chiếu VN

Dung dịch màu đối chiếu	Dung dịch màu chuẩn VN (ml)	Dung dịch acid hydrochloric 1 % (ml)
VN ₁	100,0	0,0
VN ₂	75,0	25,0
VN ₃	50,0	50,0
VN ₄	25,0	75,0
VN ₅	12,5	87,5
VN ₆	5,0	95,0
VN ₇	2,5	97,5

Bảng 9.3.2 c - Dung dịch màu đối chiếu V

Dung dịch màu đối chiếu	Dung dịch màu chuẩn V (ml)	Dung dịch acid hydrochloric 1 % (ml)
V ₁	100,0	0,0
V ₂	75,0	25,0
V ₃	50,0	50,0
V ₄	25,0	75,0
V ₅	12,5	87,5
V ₆	5,0	95,0
V ₇	2,5	97,5

Bảng 9.3.2 d - Dung dịch màu đối chiếu VL

Dung dịch màu đối chiếu	Dung dịch màu chuẩn VL (ml)	Dung dịch acid hydrochloric 1 % (ml)
VL ₁	25,0	75,0
VL ₂	15,0	85,0
VL ₃	8,5	91,5
VL ₄	5,0	95,0
VL ₅	3,0	97,0
VL ₆	1,5	98,5
VL ₇	0,75	99,25

Bảng 9.3.2 e - Dung dịch màu đối chiếu Đ

Dung dịch màu đối chiếu	Dung dịch màu chuẩn Đ (ml)	Dung dịch acid hydrochloric 1 % (ml)
Đ ₁	100,0	0,0
Đ ₂	75,0	25,0
Đ ₃	50,0	50,0
Đ ₄	37,5	62,5
Đ ₅	25,0	75,0
Đ ₆	12,5	87,5
Đ ₇	5,0	95,0

Bảo quản

Với phương pháp 1, các dung dịch màu đối chiếu cần được bảo quản trong những ống thủy tinh trung tính, không màu, trong suốt có đường kính ngoài 12 mm, được hàn kín và tránh ánh sáng.

Với phương pháp 2, các dung dịch màu đối chiếu phải được chuẩn bị ngay trước khi dùng từ dung dịch màu chuẩn.

9.4 XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN CÁC TẠP CHẤT**9.4.1 Amoni**

Dùng phương pháp A, trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận.

Phương pháp A

Hòa tan một lượng chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận với 14 ml nước trong một ống nghiệm có

nút mài, kiềm hoá nếu cần bằng dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), thêm nước vừa đủ 15 ml. Thêm 0,3 ml dung dịch kali tetraiodomercurat kiềm (TT), lắc đều rồi để yên 5 phút. So sánh màu tạo thành trong ống thử với màu mẫu được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện như dung dịch thử.

Màu mẫu: Lấy chính xác 10 ml dung dịch amoni mẫu 1 phần triệu NH₄ (TT) cho vào một ống nghiệm, pha loãng với nước thành 15 ml. Thêm 0,3 ml dung dịch kali tetraiodomercurat kiềm (TT), lắc đều rồi để yên 5 phút.

Khi so màu, quan sát dọc theo trục ống nghiệm, dưới ánh sáng khuếch tán trên nền trắng. Màu vàng xuất hiện trong ống thử không được đậm hơn màu trong ống mẫu.

Phương pháp B

Cho một lượng chế phẩm (theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng) đã nghiền mịn vào một bình 25 ml có nút đáy bằng polyethylen và hòa tan hoặc phân tán trong 1 ml nước. Thêm 0,3 g magnesi oxyd nặng (TT). Đậy bình ngay sau khi đã đặt xuống dưới nắp polyethylen một mẫu giấy tẩm mangan bạc (TT) hình vuông có cạnh 5 mm đã được làm ẩm bằng vài giọt nước. Lắc xoay tròn bình, tránh chất lỏng bắn lên và để yên ở 40 °C trong 30 phút.

Màu xám nếu xuất hiện trên mẫu giấy tẩm mangan bạc ở bình thử không được đậm hơn ở bình mẫu được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện với lượng dung dịch amoni mẫu 1 phần triệu NH₄ (TT) đã được chỉ dẫn trong chuyên luận, 1 ml nước và 0,3 g magnesi oxyd nặng (TT).

9.4.2 Arsen X

Dùng phương pháp A, trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận.

Phương pháp A

Dụng cụ: Bộ dụng cụ thử arsen (Hình 9.4.2) gồm một bình nón nút mài cỡ 100 ml được đầy bằng nút thủy tinh mài, xuyên qua nút có một ống thủy tinh dài khoảng 200 mm, đường kính trong là 5 mm. Phần dưới của ống thủy tinh được kéo nhỏ lại để có đường kính trong là 1,0 mm và cách đầu ống 15 mm có một lỗ trên thành ống với đường kính 2 mm đến 3 mm. Khi gắn ống thủy tinh vào nút thì lỗ này phải ở cách mặt dưới của nút ít nhất là 3 mm. Đầu trên của ống thủy tinh có một đĩa tròn phẳng, mặt phẳng của đĩa vuông góc với trục ống.

Một ống thủy tinh thứ hai dài 30 mm, có cùng đường kính và cũng có đĩa tròn phẳng tương tự như ống thứ nhất, đặt tiếp xúc mặt đĩa tròn với ống thứ nhất và được giữ chặt với ống thứ nhất bằng 2 dây lò xo.

Tiến hành: Cho xuống đầu thấp của ống thủy tinh dài khoảng 50 mg đến 60 mg bọng tẩm chì acetat (TT) hoặc một miếng gạc cotton bọc một mẫu giấy tẩm chì

acetat (TT) nặng 50 mg đến 60 mg. Đặt một miếng giấy tẩm thủy ngân (II) bromid (TT), hình tròn hay hình vuông, có kích thước đủ để phủ kín lỗ tròn giữa 2 ống thủy tinh (15 mm × 15 mm), giữ chặt 2 ống thủy tinh bằng 2 dây lò xo.

Cho vào bình nón một lượng chế phẩm thử theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Hòa tan hoặc pha loãng (nếu chế phẩm thử là dung dịch) với nước thành 25 ml. Thêm 15 ml acid hydrocloric (TT), 0,1 ml dung dịch thiếc (II) clorid AsT (TT) và 5 ml dung dịch kali iodid 16,6 % (TT). Để yên 15 phút rồi thêm 5 g *kẽm không có arsen* (TT). Đậy ngay bình nón bằng nút đã lắp sẵn giấy thử ở trên và ngâm bình trong nước ở nhiệt độ sao cho khí được giải phóng đều đặn.

Song song tiến hành một mẫu so sánh trong cùng điều kiện, dùng 1 ml dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT) hòa loãng với nước thành 25 ml thay cho chế phẩm thử.

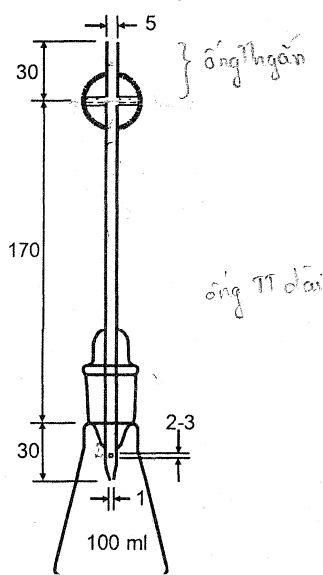
Sau ít nhất 2 giờ lấy các miếng giấy tẩm thủy ngân (II) bromid (TT) ra so sánh các vết màu. Vết màu nếu có trên miếng giấy của bình thử phải không được đậm hơn vết màu trên miếng giấy của bình mẫu.

Phương pháp B

Lấy một lượng chế phẩm thử theo chỉ dẫn trong chuyên luận cho vào một ống nghiệm chứa 4 ml acid hydrocloric (TT) và khoảng 5 mg kali iodid (TT), thêm 3 ml dung dịch hypophosphit (TT). Đun cách thủy hỗn hợp trong 15 phút, thỉnh thoảng lắc.

Tiến hành song song một mẫu so sánh trong cùng điều kiện, thay chế phẩm thử bằng 0,5 ml dung dịch arsen mẫu 10 phần triệu As (TT).

So sánh màu trong hai ống. Màu trong ống thử không được đậm hơn màu trong ống so sánh.



Hình 9.4.2 - Dụng cụ thử arsen
(Kích thước tính bằng mm)

9.4.3 Calci

Các dung dịch dùng trong phép thử này phải được chuẩn bị với nước cất.

Thêm 1 ml dung dịch amoni oxalat 4 % (TT) vào 0,2 ml dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca trong ethanol 96 % (TT). Sau 1 phút, thêm hỗn hợp gồm 1 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT) và 15 ml dung dịch chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận và lắc.

Sau 15 phút, so sánh độ đục tạo thành trong ống thử với độ đục mẫu được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện nhưng thay dung dịch chế phẩm thử bằng hỗn hợp gồm 10 ml dung dịch calci mẫu 10 phần triệu Ca (TT) và 5 ml nước.

Ống thử phải không được đục hơn ống mẫu.

9.4.4 Chì trong đường

Tiến hành theo phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2), dùng ngọn lửa acetylen - không khí, đèn cathod rỗng chì và các dung dịch sau:

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 g chế phẩm thử trong dung dịch acid acetic 1 M (TT) để được 100,0 ml. Thêm 2,0 ml dung dịch bão hòa amoni pyrolidin dithiocarbamat (TT) và 10,0 ml 4-methylpentan-2-on (TT), lắc trong 30 giây, tránh ánh sáng. Để yên cho tách lớp và lấy lớp 4-methylpentan-2-on.

Các dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị 3 dung dịch đối chiếu trong cùng điều kiện như dung dịch thử, bằng cách thêm riêng biệt 0,5 ml, 1,0 ml, 1,5 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT) vào mỗi bình đã có 20,0 g chế phẩm thử.

Chuẩn bị một mẫu trắng trong cùng điều kiện giống như dung dịch thử nhưng không có chế phẩm thử.

Đo độ hấp thụ của dung dịch thử, 3 dung dịch đối chiếu và mẫu trắng ở cực đại 283,3 nm, dùng dung dịch trắng để hiệu chỉnh điểm 0 của máy. Vẽ đường biểu diễn sự phụ thuộc giữa độ hấp thụ với nồng độ chì trong các dung dịch và xác định hàm lượng của chì trong chế phẩm thử.

Hàm lượng chì không được lớn hơn 0,5 phần triệu trừ khi có chỉ dẫn khác.

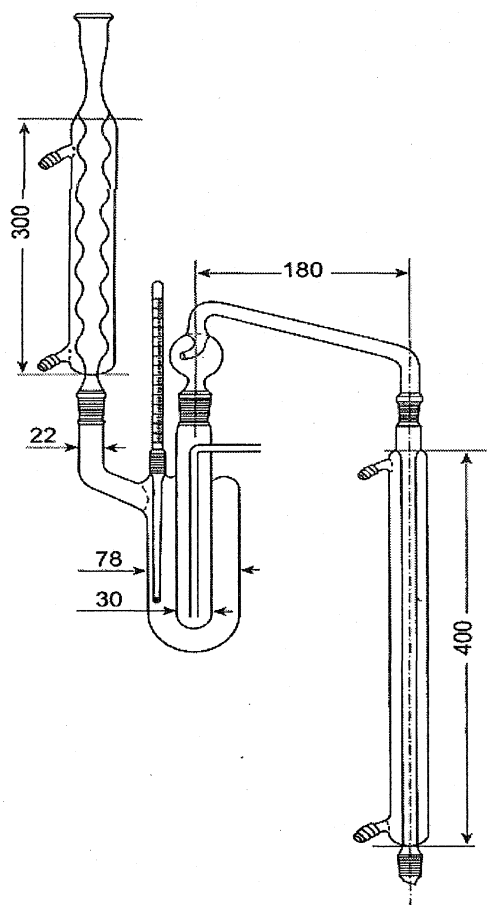
9.4.5 Clorid

Chuẩn bị dung dịch thử như chỉ dẫn trong chuyên luận, cho vào một ống nghiệm, pha loãng với nước đến 15 ml. Thêm 1 ml dung dịch acid nitric 2 M (TT) và 1 ml dung dịch bạc nitrat 2 % (TT). Để yên 5 phút, tránh ánh sáng. So sánh độ đục tạo thành trong ống thử với độ đục trong ống mẫu được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện nhưng thay dung dịch thử bằng hỗn hợp gồm 10 ml dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl (TT) và 5 ml nước. Quan sát dọc theo trục ống nghiệm, dưới ánh sáng khuếch tán trên nền đen. Ống thử không được đục hơn ống mẫu.

9.4.6 Fluorid

Dùng thiết bị cát như mô tả trong Hình 9.4.6 bao gồm một ống nghiệm nút mài nối với một ống ngưng ruột thẳng. Ống nghiệm được đặt trong một bộ phận đun

bằng thủy tinh chịu nhiệt kín có nối với một ống sinh hàn và nhiệt kế.



Hình 9.4.6 - Dụng cụ thử giới hạn fluorid
(Kích thước tính bằng mm)

Cân và chuyển một lượng chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận vào ống nghiệm, thêm 0,1 g cát đã được rửa bằng acid và 20 ml acid sulfuric 50 % (tt/tt). Rót tetrachloroethan (TT) vào bình đun, đun nóng và giữ ở nhiệt độ sôi của tetrachloroethan (146 °C). Chung cất và hứng dịch cất vào bình định mức 100 ml có chứa sẵn 0,3 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT) và 0,1 ml dung dịch phenolphthalein (TT). Duy trì thể tích ở trong ống nghiệm là 20 ml trong suốt quá trình cất, và giữ cho dịch trong bình cất luôn luôn kiềm bằng cách thêm dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT) nếu cần. Thêm nước vào bình hứng dịch cất vừa đủ 100 ml, được dung dịch thử. Chuẩn bị mẫu chuẩn với cùng điều kiện như mẫu thử nhưng thay chế phẩm bằng 5 ml dung dịch fluorid chuẩn 10 phần triệu F (TT). Lấy 2 ống nghiệm nút mài, thêm riêng rẽ 20 ml dung dịch thử và dung dịch chuẩn và thêm 5 ml thuốc thử acid aminomethylalizarindiacetic (TT) vào mỗi dung dịch, sau 20 phút nếu dung dịch thử có màu xanh (ban đầu là màu đỏ) thì không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu.

9.4.7 Kali

Thêm 2 ml dung dịch natri tetraphenylborat 1 % (TT) mới pha vào 10 ml dung dịch chế phẩm thử đã chỉ dẫn trong chuyên luận, để yên 5 phút. So sánh độ đục tạo thành trong ống thử với độ đục trong ống mẫu được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện một hỗn hợp của 5 ml dung dịch kali mẫu 20 phần triệu K (TT) và 5 ml nước. Độ đục trong ống thử không được đậm hơn độ đục trong ống mẫu.

9.4.8 Kim loại nặng

Dùng một trong các phương pháp sau đây, tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Phương pháp 1

Lấy 12 ml dung dịch chế phẩm thử được pha chế như chỉ dẫn trong chuyên luận, cho vào một ống nghiệm, thêm 2 ml dung dịch đệm acetat pH 3,5. Lắc đều. Thêm 1,2 ml dung dịch thioacetamid (TT), lắc ngay rồi để yên 2 phút. Chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện ống mẫu dùng hỗn hợp 10 ml dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT) hoặc dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT) tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận và 2 ml dung dịch chế phẩm thử. So sánh màu tạo thành trong ống thử và ống mẫu. Màu nâu trong ống thử không được đậm hơn màu trong ống mẫu. Phép thử chỉ có giá trị khi ống mẫu có màu nâu nhạt khi được so sánh với ống trắng được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện, gồm 10 ml nước và 2 ml dung dịch chế phẩm thử.

Phương pháp 2

Hòa tan một lượng chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận trong một dung môi hữu cơ có chứa một tỷ lệ nước tối thiểu như 1,4-dioxan (TT) hoặc acetone (TT) có chứa 15 % nước (tt/tt). Thực hiện giống như phương pháp 1, nhưng chuẩn bị dung dịch ion chì mẫu bằng cách pha loãng dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT) với dung môi được dùng để pha chế phẩm thử thành các dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT) hoặc 2 phần triệu Pb tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Phép thử chỉ có giá trị khi ống mẫu có màu nâu nhạt khi được so sánh với ống trắng được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện gồm 10 ml dung môi được dùng để pha chế phẩm thử và 2 ml dung dịch chế phẩm thử.

Phương pháp 3

Lấy một lượng chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận (không nhiều hơn 2 g) cho vào một chén nung silica. Thêm 4 ml dung dịch magnesi sulfat 25 % trong acid sulfuric 1 M (TT). Trộn đều bằng một đũa thủy tinh nhỏ rồi đun nóng cẩn thận. Nếu hỗn hợp là một chất lỏng thì làm bay hơi từ từ trên cách thủy đến khô. Đốt dần dần để than hóa, chú ý đốt ở nhiệt độ không cao quá 800 °C, tiếp tục đốt cho đến khi thu được cặn màu trắng hay xám nhạt. Để nguội, làm ẩm

cẩn bằng khoảng 0,2 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, bốc hơi rồi đốt lại, sau đó để nguội. Toàn bộ thời gian đốt không nên quá 2 giờ. Hòa tan cẩn, dùng 2 lượng, mỗi lượng 5 ml *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)*. Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)*, rồi cho từng giọt *dung dịch amoniac đậm đặc (TT)* đến khi có màu hồng. Để nguội, thêm *acid acetic băng (TT)* đến khi mất màu dung dịch, rồi thêm 0,5 ml nữa. Lọc nếu cần, rồi pha loãng dung dịch với nước thành 20 ml (dung dịch thử)

Lấy 12 ml dung dịch thử cho vào một ống nghiệm, thêm 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5*, lắc đều. Thêm 1,2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)*, lắc đều rồi để yên 2 phút. So sánh màu của ống thử với màu của ống mẫu được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện. Màu của ống thử không được đậm hơn màu của ống mẫu.

Chuẩn bị ống mẫu như sau: Lấy một thể tích *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* như đã chỉ dẫn trong chuyên luận, cho vào chén nung silica, thêm 4 ml *dung dịch magnesi sulfat 25 % trong acid sulfuric 1 M (TT)*, sau đó tiếp tục xử lý như cách xử lý mẫu ghi ở trên, bắt đầu từ câu: "Trộn đều bằng một đũa thủy tinh nhỏ..." đến câu: "Lọc nếu cần, rồi pha loãng dung dịch với nước thành 20 ml".

Lấy 2 ml dung dịch thử cho vào một ống nghiệm, thêm 10 ml dung dịch thu được từ xử lý dung dịch chì mẫu, 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5*. Lắc đều, thêm 1,2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)*. Lắc đều rồi để yên 2 phút. Dung dịch ion chì mẫu có màu nâu sáng khi được so sánh với dung dịch được chuẩn bị trong cùng điều kiện gồm 10 ml nước và 2 ml dung dịch thử.

Phương pháp 4

Trộn đều một lượng chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận với 0,5 g *magnesi oxyd (TT)* trong một chén sứ. Nung đỏ hỗn hợp cho đến khi thu được một khối đồng nhất màu trắng hay trắng xám nhạt. Nếu sau khi nung 30 phút mà hỗn hợp vẫn có màu thì để nguội, dùng đũa thủy tinh trộn đều rồi nung lại. Nếu cần, lại lặp lại thao tác đó. Cuối cùng nung ở 800 °C trong 1 giờ. Hòa tan cẩn, dùng 2 lượng, mỗi lượng 5 ml *dung dịch acid hydrochloric 5 N (TT)*, sau đó tiếp tục tiến hành như mô tả ở phương pháp 3, bắt đầu từ câu: "Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)*... màu của ống mẫu".

Chuẩn bị ống mẫu như sau: Lấy một thể tích *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* như chỉ dẫn trong chuyên luận, cho vào một chén nung silica, trộn với 0,5 g *magnesi oxyd (TT)*. Làm khô hỗn hợp trong tủ sấy ở 100 °C đến 105 °C, nung như mô tả ở trên. Hòa tan cẩn, dùng 2 lượng, mỗi lượng 5 ml *dung dịch acid hydrochloric 5 N (TT)* rồi tiếp tục tiến hành như mô tả ở phương pháp 3, bắt đầu từ câu: "Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (CT)*...". Dùng 10 ml dung dịch

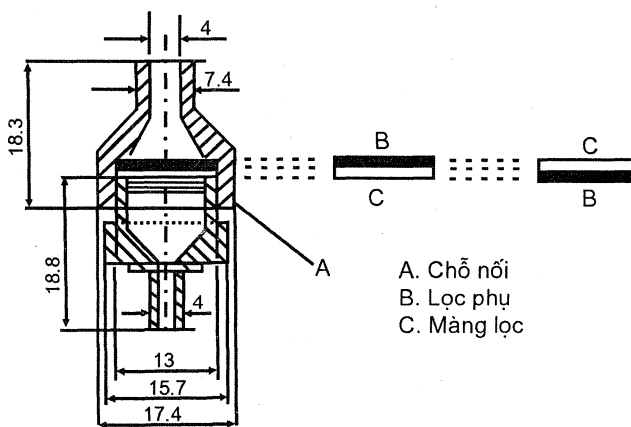
thu được từ xử lý dung dịch ion chì mẫu và 2 ml dung dịch thử để chuẩn bị ống chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch ion chì mẫu có màu nâu sáng khi được so sánh với dung dịch được chuẩn bị trong cùng điều kiện gồm 10 ml nước và 2 ml dung dịch thử.

Phương pháp 5

Dùng một bộ giữ màng lọc có kích thước như ghi trên Hình 9.4.8, lắp với một bơm tiêm cỡ 50 ml. Màng lọc (C) được làm từ một chất liệu thích hợp có đường kính lỗ là 3 µm và được bảo vệ bởi một màng lọc phụ (B).

Hòa tan một lượng chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận vào trong 30 ml nước, nếu không có quy định gì khác. Lọc dung dịch qua màng lọc nhờ một áp lực nhẹ.

Tháo bộ giữ màng lọc ra và kiểm tra xem màng lọc có bị nhiễm bẩn không, nếu cần thì thay màng lọc và lọc lại. Lấy toàn bộ hay một phần dịch lọc như chỉ dẫn ở chuyên luận, thêm 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5* và 1,2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)*, lắc đều và để yên 10 phút. Đảo trật tự màng lọc và màng lọc phụ rồi lọc chậm dung dịch phản ứng qua màng với một áp lực nhẹ. Lấy màng lọc ra, làm khô bằng cách ép trên giấy lọc. Độ đậm của vết màu tạo thành trên màng lọc không được đậm hơn màu mẫu thu được với một thể tích dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb như đã chỉ dẫn trong chuyên luận và được chuẩn bị trong cùng điều kiện với mẫu thử, bắt đầu từ câu: "thêm 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5*....".



Hình 9.4.8 - Dụng cụ thử giới hạn kim loại nặng (Phương pháp 5)

Phương pháp 6

Dung dịch thử: Lấy một lượng chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận vào một bình Kjeldahl dung tích 100 ml (có thể dùng bình dung tích 300 ml nếu phản ứng tạo bọt nhiều). Giữ bình nghiêng một góc 45°. Nếu chế phẩm là chất rắn, thêm vừa đủ một thể tích hỗn hợp 8 ml *acid sulfuric (TT)* và 10 ml *acid nitric (TT)* để làm ẩm toàn bộ mẫu. Nếu chế phẩm là chất

lòng, thêm vài ml hỗn hợp *acid sulfuric* (TT) và 10 ml *acid nitric* (TT). Đun nóng nhẹ đến khi phản ứng bắt đầu, đợi phản ứng giảm bớt và tiếp tục thêm từng phần hỗn hợp acid, đun nóng sau mỗi lần thêm, đến khi hết 18 ml hỗn hợp acid. Tăng nhiệt độ đun và đun sôi đến khi dung dịch thâm màu. Để nguội, thêm 2 ml *acid nitric* (TT) và đun nóng đến khi dung dịch thâm màu. Tiếp tục đun và thêm *acid nitric* (TT) đến khi dung dịch không còn thâm màu thêm nữa. Đun nóng mạnh đến khi có khói trắng, dày đặc tạo thành. Để nguội, thêm cẩn thận 5 ml *nước*, đun sôi nhẹ đến khi có khói trắng, dày đặc tạo thành và tiếp tục đun đến khi còn 2 đến 3 ml. Để nguội, thêm cẩn thận 5 ml *nước* và quan sát màu của dung dịch. Nếu dung dịch có màu vàng, thêm cẩn thận 1 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc* (TT) và tiếp tục đun đến khi có khói trắng, dày đặc tạo thành và dung dịch còn khoảng 2 đến 3 ml. Nếu dung dịch vẫn có màu vàng, lặp lại bước thêm 5 ml *nước* và 1 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc* (TT) đến khi dung dịch không màu. Để nguội, pha loãng cẩn thận với *nước* và tráng vào ống Nessler dung tích 50 ml sao cho thể tích dung dịch thu được không vượt quá 25 ml. Điều chỉnh pH dung dịch từ 3,0 đến 4,0 bằng *amoniac* (TT) (có thể dùng *dung dịch amoniac 6 M* (TT) để điều chỉnh khi đến gần khoảng pH yêu cầu), dùng giấy chỉ thị có khoảng chỉ thị pH hẹp. Thêm *nước* để được 40 ml và trộn đều. Thêm 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5* (TT) và 1,2 ml *dung dịch thioacetamid* (TT), trộn đều. Pha loãng với *nước* thành 50 ml.

Dung dịch mẫu (đối chiếu): Tiến hành đồng thời như dung dịch thử, thay chế phẩm bằng một thể tích *dung dịch ion chì mẫu 10 phần triệu Pb* (TT) như yêu cầu trong chuyên luận riêng.

Dung dịch kiểm tra: Tiến hành như dung dịch thử, thêm vào chế phẩm thử một thể tích *dung dịch ion chì mẫu 10 phần triệu Pb* (TT) như đã dùng để chuẩn bị dung dịch mẫu.

Dung dịch mẫu trắng: Tiến hành như dung dịch thử nhưng không có chế phẩm.

Quan sát các dung dịch dọc theo chiều dài ống nghiệm trên nền trắng. Sau 2 phút, nếu ống thử có màu nâu thì không được đậm hơn màu ống mẫu. Phép thử không có giá trị nếu ống mẫu không có màu nâu khi so sánh với ống trắng, hoặc ống kiểm tra không so sánh được với ống mẫu.

Nếu kết quả khó đánh giá, lọc các dung dịch qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 3 μm (Xem Hình 9.4.8, không dùng màng lọc phụ B). Lọc chậm với tốc độ đều và áp lực hằng định. So sánh các vết thu được trên màng lọc.

Phương pháp 7

Chú ý: Khi dùng thiết bị phá mẫu áp suất cao phải theo đúng hướng dẫn vận hành và chú ý về an toàn do nhà sản xuất đưa ra. Thiết lập chu kỳ phá mẫu tùy

thuộc kiểu lò vi sóng (Ví dụ kiểu lò kiểm soát năng lượng, kiểu lò kiểm soát nhiệt độ hoặc lò áp suất cao). Chu kỳ này phải theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Chu kỳ phá mẫu là phù hợp nếu thu được dung dịch trong.

Dung dịch thử: Lấy một lượng chế phẩm thử như chỉ dẫn (không quá 0,5 g) vào một cốc sạch phù hợp. Thêm lần lượt 2,7 ml *acid sulfuric* (TT), 3,3 ml *acid nitric* (TT) và 2,0 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc* (TT) vừa thêm vừa khuấy đều bằng máy khuấy từ, để từng thuốc thử phản ứng với chế phẩm trước khi thêm thuốc thử tiếp theo. Chuyển hỗn hợp vào bình phá mẫu chịu áp suất cao (bằng fluoropolymer hoặc thạch anh), bình phải được làm khô trước khi cho mẫu vào.

Dung dịch mẫu (đối chiếu): Tiến hành như dung dịch thử, thay chế phẩm bằng một thể tích *dung dịch ion chì mẫu 10 phần triệu Pb* (TT) như yêu cầu trong chuyên luận riêng.

Dung dịch kiểm tra: Tiến hành như dung dịch thử, thêm vào chế phẩm thử một thể tích *dung dịch ion chì mẫu 10 phần triệu Pb* (TT) như đã dùng để chuẩn bị dung dịch mẫu.

Dung dịch mẫu trắng: Tiến hành như dung dịch thử nhưng không có chế phẩm.

Đặt bình phá mẫu và đặt vào trong lò vi sóng. Áp dụng 2 chương trình phá mẫu thích hợp kế tiếp nhau. Thiết lập các chương trình theo một số bước để có thể kiểm soát phản ứng, theo dõi áp suất, nhiệt độ hoặc năng lượng tùy theo kiểu lò vi sóng sử dụng. Sau khi áp dụng chương trình đầu tiên, để nguội các bình phá mẫu trước khi mở. Thêm vào mỗi bình 2 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc* (TT) và áp dụng chương trình phá mẫu tiếp theo. Sau khi áp dụng chương trình thứ hai, để nguội các bình phá mẫu trước khi mở. Nếu cần thiết để có được dung dịch trong, lặp lại bước thêm *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc* (TT) và chương trình phá mẫu thứ hai.

Để nguội, pha loãng cẩn thận với *nước* và tráng rửa vào một bình nón sao cho thể tích dung dịch thu được không vượt quá 25 ml. Điều chỉnh pH dung dịch từ 3,0 đến 4,0 bằng *amoniac* (TT) (có thể dùng *dung dịch amoniac 6 M* (TT) để điều chỉnh khi đến gần khoảng pH yêu cầu), dùng giấy chỉ thị có khoảng chỉ thị pH hẹp. Để tránh làm nóng dung dịch, ngâm dung dịch trong nước đá và dùng máy khuấy từ. Pha loãng thành 40 ml với *nước* và trộn đều. Thêm 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5* (TT) và 1,2 ml *dung dịch thioacetamid* (TT), trộn đều. Pha loãng với *nước* thành 50 ml, trộn đều và để yên 2 phút.

Lọc các dung dịch qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 3 μm (Xem Hình 9.4.8, không dùng màng lọc phụ B). Lọc chậm với tốc độ đều và áp lực hằng định. So sánh các vết trên màng lọc thu được từ các dung dịch trên. Màu nâu của vết thu được từ dung dịch thử không

được đậm hơn màu nâu của vết thu được từ dung dịch mẫu.

Phép thử không có giá trị nếu vết thu được từ dung dịch mẫu không có màu nâu khi so sánh với vết của dung dịch mẫu trắng, hoặc vết thu được từ dung dịch kiểm tra không so sánh được với vết thu được từ dung dịch mẫu.

9.4.9 Nhôm

Chuyển dung dịch chế phẩm thử đã chỉ dẫn trong chuyên luận vào một bình gạn và chiết lần lượt với 20 ml, 20 ml và 10 ml dung dịch 8-hydroxyquinolin 0,5 % trong cloroform (TT). Gộp các dịch chiết cloroform và pha loãng tới 50,0 ml bằng cloroform (TT) (dung dịch thử).

Trừ khi có chỉ dẫn khác, chuẩn bị dung dịch trắng và dung dịch chuẩn trong cùng điều kiện như dung dịch thử.

Dung dịch trắng là hỗn hợp 10 ml dung dịch đệm acetat pH 6,0 và 100 ml nước.

Dung dịch chuẩn là hỗn hợp 2 ml dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu Al (TT), 10 ml dung dịch đệm acetat pH 6,0 và 98 ml nước.

Đo huỳnh quang của dung dịch thử (I_1), dung dịch chuẩn (I_2) và dung dịch trắng (I_3) (Phụ lục 4.3) với bước sóng kích thích là 392 nm và một kính lọc phụ có dải truyền quang tập trung ở 518 nm, hoặc đặt một thiết bị làm đơn sắc ánh sáng để truyền quang ở chính bước sóng đó.

Cường độ huỳnh quang của dung dịch thử ($I_1 - I_3$) không được lớn hơn của dung dịch chuẩn ($I_2 - I_3$).

9.4.10 Nickel trong polyol

Tiến hành theo phương pháp II của quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4), dùng ngọn lửa acetylen - không khí, đèn cathod rỗng nickel và các dung dịch sau:

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 g chế phẩm thử trong dung dịch acid acetic 1 M (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Thêm 2,0 ml dung dịch bão hòa amoni pyrolidin dithiocarbamat (TT) (khoảng 1 %) và 10,0 ml 4-methylpentan-2-on (TT) lắc trong 30 giây, tránh ánh sáng. Để yên cho tách lớp và lấy lớp methylpentanon.

Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị 3 dung dịch đối chiếu trong cùng điều kiện như dung dịch thử bằng cách thêm riêng biệt 0,5 ml; 1,0 ml; 1,5 ml dung dịch nickel mẫu 10 phần triệu Ni (TT) vào mỗi bình đã có 20,0 g chế phẩm thử.

Chuẩn bị một mẫu trắng trong cùng điều kiện giống như dung dịch thử, nhưng không có chế phẩm thử và dùng dung dịch này để hiệu chỉnh điểm "0" của máy.

Đo độ hấp thụ của dung dịch thử, 3 dung dịch đối chiếu và mẫu trắng ở cực đại 232,0 nm. Vẽ đường cong biểu diễn sự phụ thuộc giữa độ hấp thụ với nồng

độ nickel trong các dung dịch và xác định hàm lượng của nickel trong chế phẩm thử.

Hàm lượng nickel không lớn hơn 1 phần triệu, trừ khi có chỉ dẫn khác.

9.4.11 Kim loại nặng trong dược liệu và trong dầu béo

Tiến hành bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4).

Chú ý: Khi dùng thiết bị phá mẫu áp suất cao và lò vi sóng dùng trong phòng thí nghiệm, phải thành thạo các thao tác an toàn và vận hành thiết bị mà nhà sản xuất đưa ra.

Thiết bị

Bao gồm các bộ phận sau:

Bình phá mẫu bằng polytetrafluoroethylen thể tích 120 ml có nắp đậy kín, có van điều chỉnh áp suất bên trong và một ống bằng polytetrafluoroethylen để xả khí.

Một hệ thống giữ các bình phá mẫu kín với cùng một lực xoắn.

Lò vi sóng với tần số 2450 MHz có công suất điều chỉnh được từ 0 đến (630 ± 70) W, nối với một máy tính có phần mềm điều khiển chương trình. Vách lò phủ một lớp polytetrafluoroethylen. Lò có quạt hút thay đổi được tốc độ, có hệ thống đĩa quay và ống hút để xả khói.

Máy quang phổ hấp thụ nguyên tử dùng đèn cathod rỗng là nguồn phát xạ và đèn deuterium hiệu chỉnh đường nền. Máy được nối với:

a) Bộ hóa hơi nguyên tử không ngọn lửa lò graphit đối với cadimi, đồng, chì, sắt, nickel và kẽm.

b) Bộ hoá hơi hydrid đối với arsen và bộ phận hóa hơi lạnh cho thủy ngân, hoặc một bộ hoá hơi khác có tính năng phù hợp cho 2 nguyên tố này.

Tiến hành

Nếu dùng trang thiết bị khác với mô tả ở trên thì cần điều chỉnh các thông số thiết bị cho phù hợp.

Rửa sạch các đồ đựng bằng thủy tinh và dụng cụ thí nghiệm bằng dung dịch acid nitric (TT) 10 g/l trước khi dùng.

Dung dịch thử: Cân và chuyển vào bình phá mẫu một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận (khoảng 0,5 g bột dược liệu hoặc dầu béo). Thêm 6 ml acid nitric không có kim loại nặng (TT) và 4 ml acid hydrocloric không có kim loại nặng (TT). Đậy kín bình.

Đặt bình phá mẫu vào lò vi sóng. Tiến hành phá mẫu theo 3 bước như sau (dùng cho 7 bình chứa mẫu thử): 80 % công suất ở 15 phút đầu, 100 % công suất ở 5 phút tiếp theo và 80 % ở 20 phút cuối.

Để nguội các bình ngoài không khí, thêm vào mỗi bình 4 ml acid sulfuric không có kim loại nặng (TT).

Lặp lại các bước phá mẫu như trên một lần nữa. Sau khi để nguội, mở bình phá mẫu ra, thu được dung dịch trong và không màu. Chuyển toàn bộ dung dịch vào bình định mức 50 ml, tráng bình phá mẫu 2 lần, mỗi lần với 15 ml nước và tập trung dịch tráng vào bình định mức trên. Thêm 1,0 ml dung dịch *magnesi nitrat* (TT) 1 % và 1,0 ml dung dịch *amoni dihydrophosphat* (TT) 10 %, thêm nước vừa đủ 50 ml.

Dung dịch mẫu trắng: Trộn 6 ml *acid nitric không có kim loại nặng* (TT) và 4 ml *acid hydrocloric không có kim loại nặng* (TT) vào bình phá mẫu và tiến hành phá mẫu như đối với dung dịch thử.

Định lượng cadimi, đồng, sắt, chì, nickel và kẽm

Xác định hàm lượng cadimi, đồng, sắt, chì, nickel, kẽm bằng phương pháp thêm chuẩn (Phụ lục 4.4), dùng các dung dịch đối chiếu của mỗi kim loại nặng và áp dụng các thông số kỹ thuật như Bảng 9.4.11.1. Độ hấp thụ của dung dịch mẫu trắng được tự động trừ vào độ hấp thụ của dung dịch thử.

Định lượng arsen và thủy ngân

Xác định hàm lượng arsen và thủy ngân trong mẫu dựa vào các dung dịch chuẩn arsen hoặc thủy ngân đã biết nồng độ bằng phương pháp xác định trực tiếp (Phụ lục 4.4) với hệ thống hoá hơi hydrid đối với arsen và hóa hơi lạnh đối với thủy ngân, hoặc với một thiết bị hóa hơi khác phù hợp.

Bảng 9.4.11.1 - Các thông số kỹ thuật để tiến hành phép thử

		Cd	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
Bước sóng	nm	228,8	324,8	248,3	232	283,5	213,9
Độ rộng khe	nm	0,5	0,5	0,2	0,2	0,5	0,5
Cường độ đèn	mA	6	7	5	10	5	7
Nhiệt độ tro hóa	°C	800	800	800	800	800	800
Nhiệt độ nguyên tử hóa	°C	1800	2300	2300	2500	2200	2000
Hiệu chỉnh đường nền		có	không	không	không	không	không
Tốc độ khí nitrogen	lít/phút	3	3	3	3	3	3

Arsen

Dung dịch mẫu: Lấy 19,0 ml dung dịch thử hoặc trắng chuẩn bị như trên, thêm 1 ml dung dịch *kali iodid* (TT) 20 %. Để yên dung dịch ở nhiệt độ phòng trong 50 phút hoặc ở 70 °C trong 4 phút.

Acid: *Acid hydrocloric không có kim loại nặng* (TT).

Dung dịch khử: Dung dịch *natri borohydrid* (TT) 0,6 % trong dung dịch *natri hydroxyd* (TT) 0,5 %.

Áp dụng các thông số kỹ thuật trong Bảng 9.4.11.2.

Bảng 9.4.11.2 - Các thông số kỹ thuật để tiến hành phép thử

		As	Hg
Bước sóng	nm	193,7	253,7
Độ rộng khe	nm	0,2	0,5
Cường độ đèn	mA	10	4
Tốc độ acid	ml/phút	1,0	1,0
Tốc độ dung dịch khử	ml/phút	1,0	1,0
Tốc độ dung dịch mẫu	ml/phút	7,0	7,0
Buồng đo		Thạch anh (làm nóng)	Thạch anh (không làm nóng)
Hiệu chỉnh đường nền		Không	Không
Tốc độ khí nitrogen	lít/phút	0,1	0,1

Thủy ngân

Dung dịch mẫu: Dung dịch thử hoặc dung dịch trắng chuẩn bị như trên.

Acid: Dung dịch chứa 515 g/l *acid hydrocloric không có kim loại nặng* (TT).

Dung dịch khử: Dung dịch *thiếc (II) clorid* 1 % trong dung dịch *acid hydrocloric loãng không có kim loại nặng* (TT).

Áp dụng các thông số kỹ thuật trong Bảng 9.4.11.2.

9.4.12 Phosphat

Thêm 4 ml *dung dịch sufomolybdic* (TT) vào 100 ml dung dịch đã được chuẩn bị, nếu cần thì trung hòa như chỉ dẫn. Lắc và thêm 0,1 ml *dung dịch thiếc (II) clorid* (TT). Chuẩn bị dung dịch chuẩn trong cùng điều kiện, dùng 2 ml *dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu PO₄* (TT) và 98 ml nước. Sau 10 phút, lấy mỗi dung dịch 20 ml và so sánh màu. Màu trong ống thử phải không được đậm hơn màu trong ống chuẩn.

9.4.13 Sắt

Hòa tan một lượng chế phẩm thử quy định trong nước rồi pha loãng với nước thành 10 ml, hoặc lấy 10 ml dung dịch chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận cho vào một ống Nessler. Thêm 2 ml *dung dịch acid citric* 20 % và 0,1 ml *acid mercaptoacetic* (TT). Lắc đều, kiểm hóa bằng *dung dịch amoniac* 10 M (TT) và pha với nước thành 20 ml. Để yên 5 phút.

Chuẩn bị một dung dịch chuẩn trong cùng điều kiện, dùng 10 ml dung dịch sắt mẫu 1 phần triệu Fe (TT) thay cho dung dịch chế phẩm thử.

Màu hồng tạo thành trong dung dịch thử không được đậm hơn màu trong dung dịch chuẩn.

9.4.14 Sulfat &

Các dung dịch dùng trong phép thử này phải được chuẩn bị trong nước cất.

Thêm 1 ml dung dịch bari clorid 25 % vào 1,5 ml dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4 , lắc và để yên 1 phút. Thêm 15 ml dung dịch chế phẩm thử đã được chỉ dẫn trong chuyên luận hoặc thêm một lượng chế phẩm thử quy định đã hòa tan trong 15 ml nước, và 0,5 ml dung dịch acid acetic 5 M (TT). Để yên 5 phút. Độ đục tạo thành trong ống thử không được đậm hơn trong ống chuẩn được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện, nhưng dùng 15 ml dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4 (TT) thay cho dung dịch chế phẩm thử.

9.4.15 Magnesi

Lấy 10 ml dung dịch thử được pha như chỉ dẫn của chuyên luận, thêm 0,1 g natri tetraborat (TT). Nếu cần thì điều chỉnh pH của dung dịch tới khoảng từ 8,8 đến 9,2 bằng dung dịch acid hydrocloric 2 M hoặc dung dịch natri hydroxyd 2 M. Lắc 2 lần, mỗi lần với 5 ml dung dịch 8-hydroxyquinolin 0,1 % trong cloroform (TT), mỗi lần lắc 1 phút, để yên cho tách lớp rồi gạn bỏ lớp cloroform phía dưới. Thêm vào lớp nước 0,4 ml *n*-butylamin (TT) và 0,1 ml triethanolamin (TT). Nếu cần thì điều chỉnh pH tới khoảng từ 10,5 đến 11,5. Thêm 4 ml dung dịch 8-hydroxyquinolin 0,1 % trong cloroform (TT), lắc 1 phút rồi để yên cho tách lớp. Nếu lớp cloroform có màu thì không được đậm hơn màu mẫu thu được khi tiến hành như trên với 1 ml dung dịch magnesi mẫu 10 phần triệu Mg (TT) và 9 ml nước.

9.4.16 Magnesi và kim loại kiềm thổ

Lấy 200 ml nước, thêm 0,1 g hydroxylamin hydroclorid (TT); 10 ml dung dịch đệm amoniac pH 10,0 (TT); 1 ml dung dịch kẽm sulfat 0,1 M (CĐ) và khoảng 15 mg hỗn hợp đen eriocrom T (TT). Đun nóng tới 40 °C và chuẩn độ với dung dịch Trilon B 0,01 M (CĐ) đến khi màu tím chuyển hẳn sang xanh. Thêm vào dung dịch một lượng chế phẩm đã được hòa tan trong 100 ml nước, hoặc một thể tích dung dịch chế phẩm, như chỉ dẫn trong chuyên luận. Nếu màu dung dịch chuyển sang tím, thì chuẩn độ tiếp với dung dịch trilon B 0,01 M (CĐ) đến khi màu hoàn toàn trở lại xanh. Thể tích dung dịch Trilon B 0,01 M (CĐ) dùng trong lần chuẩn độ thử hai không được quá lượng quy định.

9.5 XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN CARBON MONOXYD TRONG KHÍ Y TẾ

Thiết bị

Thiết bị gồm các phần sau được mắc nối tiếp với nhau (Hình 9.5):

U1: Ống hình chữ U chứa silica gel khan được tẩm crom (VI) oxyd (TT).

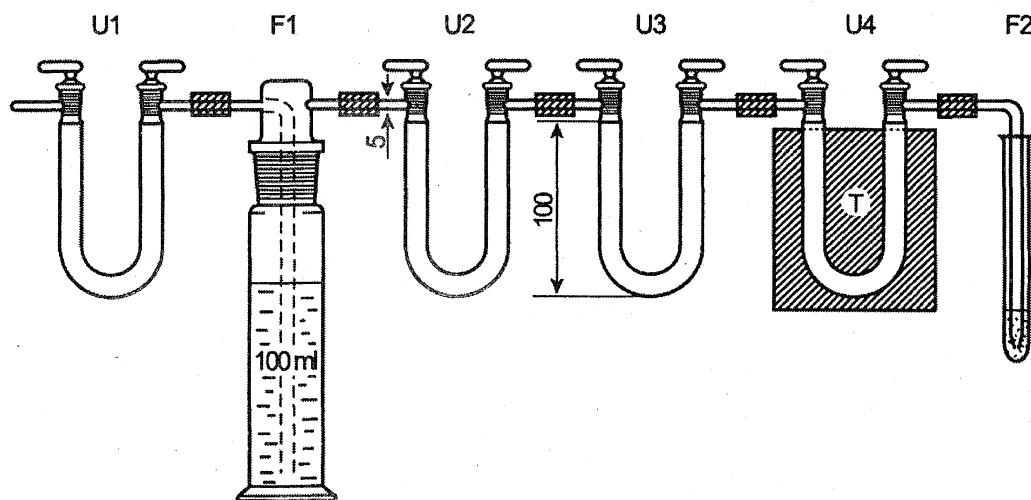
F1: Bình rửa chứa 100 ml dung dịch kali hydroxyd 40 % (TT).

U2: Ống hình chữ U chứa các hạt kali hydroxyd (TT) (ống này không cần khi thử carbon dioxyd).

U3: Ống hình chữ U chứa phosphor pentoxyd được phân tán trên đá bọt.

U4: Ống hình chữ U chứa 30 g các hạt iod pentoxyd kết tinh lại đã được sấy trước ở 200 °C và duy trì ở 120 °C trong suốt quá trình thử. Iod pentoxyd được nhồi trong một ống thành các cột 1 cm được phân cách bằng các cột bông thủy tinh 1 cm để được một đoạn hữu hiệu dài 5 cm.

F2: Ống phản ứng chứa 2,0 ml dung dịch kali iodid 16,6 % (TT) và 0,15 ml dung dịch hồ tinh bột (TT).



Hình 9.5 - Thiết bị thử giới hạn carbon monoxyd (Kích thước tính bằng mm)

Tiến hành

Rửa thiết bị bằng 5,0 lít khí argon và nếu cần, làm mất màu của dung dịch iodid bằng cách thêm lượng ít nhất *dung dịch natri thiosulfat 0,002 N (CD)* mới pha. Tiếp tục rửa đến khi lượng *dung dịch natri thiosulfat 0,002 N (CD)* cần dùng không quá 0,045 ml sau khi cho 5,0 lít khí argon chạy qua.

Cho khí cần kiểm tra chạy qua thiết bị, dùng thể tích và tốc độ dòng theo qui định trong chuyên luận riêng. Rửa vết iod giải phóng vào bình phản ứng bằng cách cho 1,0 lít khí argon chạy qua. Chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,002 N (CD)*.

Tiến hành mẫu trắng trong cùng điều kiện, dùng thể tích argon theo qui định trong chuyên luận riêng. Thể tích *dung dịch natri thiosulfat 0,002 N (CD)* chênh lệch giữa hai lần chuẩn độ không được quá giới hạn qui định trong chuyên luận riêng.

9.6 XÁC ĐỊNH MẤT KHỐI LƯỢNG DO LÀM KHÔ

Mất khối lượng do làm khô là sự giảm khối lượng của mẫu thử biểu thị bằng phần trăm (khối lượng/khối lượng) khi được làm khô trong điều kiện xác định ở mỗi chuyên luận. Phương pháp này dùng để xác định hàm lượng nước, một phần hoặc toàn bộ lượng nước kết tinh và lượng chất dễ bay hơi khác trong mẫu thử.

Việc xác định mất khối lượng do làm khô không được làm thay đổi tính chất lý hóa cơ bản của mẫu thử, vì vậy mỗi chuyên luận riêng sẽ có quy định cách làm khô theo một trong các phương pháp sau đây:

- Trong bình hút ẩm.* Tiến hành làm khô trong bình hút ẩm với những chất hút nước như phosphor pentoxyd, silica gel v.v...
- Trong chân không.* Tiến hành làm khô ở điều kiện áp suất từ 1,5 kPa đến 2,5 kPa có mặt chất hút ẩm phosphor pentoxyd và ở nhiệt độ phòng.
- Trong chân không ở điều kiện nhiệt độ xác định.* Tiến hành làm khô ở điều kiện áp suất từ 1,5 kPa đến 2,5 kPa có mặt chất hút ẩm phosphor pentoxyd và trong điều kiện nhiệt độ quy định trong chuyên luận riêng.
- Trong tủ sấy ở điều kiện nhiệt độ xác định.* Tiến hành làm khô trong tủ sấy ở điều kiện nhiệt độ quy định trong chuyên luận riêng.
- Trong chân không hoàn toàn.* Tiến hành làm khô trong điều kiện áp suất không quá 0,1 kPa có mặt chất hút ẩm phosphor pentoxyd và ở điều kiện nhiệt độ qui định trong chuyên luận riêng.

Cách tiến hành

Dùng dụng cụ dùng để sấy bằng thủy tinh rộng miệng đáy bằng có nắp mài làm bì đựng mẫu thử; làm khô bì trong thời gian 30 phút theo phương pháp và điều kiện

quy định trong chuyên luận rồi cân để xác định khối lượng bì. Cân ngay vào bì này một lượng chính xác mẫu thử bằng khối lượng quy định trong chuyên luận với sai số $\pm 10\%$. Nếu không có chỉ dẫn gì đặc biệt thì lượng mẫu thử được dàn mỏng thành lớp có độ dày không quá 5 mm. Nếu mẫu thử có kích thước lớn thì phải nghiền nhanh tới kích thước dưới 2 mm trước khi cân. Tiến hành làm khô trong điều kiện quy định của chuyên luận. Nếu dùng phương pháp sấy thì nhiệt độ thực cho phép chênh lệch $\pm 2^\circ\text{C}$ so với nhiệt độ quy định. Sau khi sấy phải làm nguội tới nhiệt độ phòng cân trong bình hút ẩm có silica gel rồi cân ngay. Nếu chuyên luận không quy định thời gian làm khô có nghĩa là phải làm khô đến khối lượng không đổi, tức là sự chênh lệch khối lượng sau khi sấy thêm 1 giờ trong tủ sấy hoặc 6 giờ trong bình hút ẩm so với lần sấy trước đó không quá 0,5 mg.

Nếu mẫu thử bị chảy ở nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ sấy quy định thì trước khi đưa lên nhiệt độ đó, cần duy trì từ 1 đến 2 giờ ở nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ nóng chảy của mẫu thử từ 5°C đến 10°C .

Nếu mẫu thử ở dạng nang hoặc viên bao thì phải bỏ vỏ (lấy không ít hơn 4 viên) và nghiền nhanh tới kích thước dưới 2 mm rồi lấy lượng bột viên như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Nếu mẫu thử là dược liệu, khi chuyên luận riêng không có chỉ dẫn gì đặc biệt thì tiến hành sấy trong tủ sấy ở áp suất thường. Dược liệu phải được làm thành mảnh nhỏ đường kính không quá 3 mm; lượng đem thử từ 2 g đến 5 g; chiều dày lớp mẫu thử đem sấy là 5 mm và không quá 10 mm đối với dược liệu có cấu tạo xốp. Nhiệt độ và thời gian sấy theo yêu cầu của chuyên luận riêng.

9.7 XÁC ĐỊNH TRO KHÔNG TAN TRONG ACID

Nếu không có hướng dẫn khác trong chuyên luận thì dùng phương pháp 1.

Phương pháp 1

Cho 25 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* vào tro toàn phần, đun sôi 5 phút, lọc để tập trung những chất không tan vào một phễu thủy tinh xốp đã cân bì, hoặc vào một giấy lọc không tro, rửa bằng nước nóng rồi đem nung ở 500°C đến khối lượng không đổi. Tính tỷ lệ phần trăm của tro không tan trong acid so với dược liệu đã làm khô trong không khí.

Phương pháp 2

Đề tro toàn phần hay tro sulfat như quy định trong chuyên luận vào một chén nung, thêm 15 ml nước và 10 ml *acid hydrocloric (TT)*. Đậy chén bằng một mặt kính đồng hồ, đun sôi cẩn thận 10 phút rồi để nguội.

Rửa mặt kính đồng hồ với 5 ml nước nóng rồi cho vào chén nung. Tập trung chất không tan vào một phễu lọc thủy tinh xóp đã cân bì hoặc vào một giấy lọc không tro, rửa bằng nước nóng tới khi dịch lọc cho phản ứng trung tính. Làm khô rồi nung tới đỏ tối, để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Nung tiếp tới khi giữa 2 lần cân khối lượng chênh lệch nhau không vượt quá 1 mg. Tính tỷ lệ phần trăm của tro không tan trong acid so với dược liệu đã được làm khô trong không khí.

9.8 XÁC ĐỊNH TRO TOÀN PHẦN

Nếu không có hướng dẫn khác trong chuyên luận thì áp dụng phương pháp 1.

Phương pháp 1

Với mẫu thử là thảo mộc: Cho 2 g đến 3 g bột mẫu thử vào một chén sứ hoặc chén platin đã nung và cân bì. Nung ở nhiệt độ không quá 450 °C tới khi không còn carbon, làm nguội rồi cân. Bằng cách này mà tro chưa loại được hết carbon thì dùng một ít nước nóng cho vào khối chất đã than hóa, dùng thìa thủy tinh khuấy đều, lọc qua giấy lọc không tro. Rửa thìa thủy tinh và giấy lọc, tập trung nước rửa vào dịch lọc. Cho giấy lọc và cặn vào chén nung rồi nung đến khi thu được tro màu trắng hoặc gần như trắng. Tập trung dịch lọc vào cặn trong chén nung, đem bốc hơi đến khô rồi nung ở nhiệt độ không quá 450 °C đến khi khối lượng không đổi. Tính tỷ lệ phần trăm của tro toàn phần theo dược liệu đã làm khô trong không khí. Với các mẫu thử khác: Cũng thực hiện như trên nhưng chỉ dùng 1 g mẫu thử nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận.

Phương pháp 2

Lấy một chén sứ hoặc chén platin nung tới đỏ trong 30 phút. Để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Nếu trong chuyên luận riêng không có hướng dẫn gì khác thì lấy 1 g mẫu thử rải đều vào chén nung, sấy 1 giờ ở 100 °C đến 105 °C rồi đem nung trong lò nung ở 600 °C ± 25 °C. Sau mỗi lần nung, lấy chén nung cùng cặn tro đem làm nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Trong quá trình thao tác không được để tạo thành ngọn lửa. Nếu sau khi đã nung lâu mà vẫn chưa loại hết carbon của tro thì dùng nước nóng để lấy cặn ra, lọc qua giấy lọc không tro rồi lại nung cặn và giấy lọc trong chén nung. Tập trung dịch lọc vào tro ở trong chén, làm bốc hơi cặn thận tới khô rồi nung đến khối lượng không đổi.

9.9 XÁC ĐỊNH TRO SULFAT

Áp dụng một trong các phương pháp sau đây nếu trong chuyên luận riêng không có hướng dẫn khác.

Phương pháp 1

Nung một chén sứ hoặc chén platin tới đỏ trong 10 phút, để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Nếu không có chỉ dẫn gì đặc biệt trong chuyên luận riêng thì cho 1 g mẫu thử vào chén nung, làm ẩm với *acid sulfuric* (TT), đốt cẩn thận rồi lại làm ẩm với *acid sulfuric* (TT) và nung ở khoảng 800 °C. Làm nguội rồi cân. Nung lại 15 phút, làm nguội rồi cân nhắc lại. Lặp lại quá trình này cho đến khi hai lần cân liên tiếp, khối lượng không chênh lệch nhau quá 0,5 mg.

Phương pháp 2

Nung một chén nung sứ hoặc platin ở 600 °C ± 50 °C trong 30 phút, để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Cho vào chén nung một lượng mẫu thử như chỉ dẫn trong chuyên luận và cân. Làm ẩm mẫu bằng một lượng nhỏ *acid sulfuric* (TT) (khoảng 1 ml), đốt nóng ở mức độ nhẹ nhất có thể đến khi mẫu hóa tro hoàn toàn. Để nguội, làm ẩm cặn bằng một lượng nhỏ *acid sulfuric* (TT), đốt nóng nhẹ đến khi bay hết khói trắng và nung ở 600 °C ± 50 °C đến khi cặn thành tro hoàn toàn. Trong khi đốt và nung không được để tạo thành ngọn lửa. Để nguội trong bình hút ẩm, cân và tính khối lượng của cặn. Nếu khối lượng cặn vượt ngoài giới hạn cho phép thì lại làm ẩm cặn bằng *acid sulfuric* (TT) và nung như trên đến khối lượng không đổi nếu không có chỉ dẫn gì khác.

9.10 XÁC ĐỊNH TRO TAN TRONG NƯỚC

Đun sôi tro toàn phần (Phụ lục 9.8) với 25 ml nước trong 5 phút. Tập trung những chất không tan vào một phễu thủy tinh xóp, hoặc vào trong một chén lọc thủy tinh xóp, hoặc trên một giấy lọc không tro, rửa bằng nước nóng rồi nung 15 phút ở nhiệt độ không quá 450 °C. Để nguội rồi cân để xác định khối lượng cặn không tan trong nước. Lấy khối lượng tro toàn phần trừ đi khối lượng cặn không tan trong nước, được khối lượng tro tan trong nước.

Tính tỷ lệ phần trăm tro tan trong nước so với dược liệu đã làm khô trong không khí.

PHỤ LỤC 10

10.1 PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ ĐO AMPE

Trong chuẩn độ đo ampe, điểm kết thúc được xác định bằng cách quan sát sự biến đổi của cường độ dòng điện đo giữa hai điện cực (một điện cực chỉ thị và một điện cực so sánh hoặc hai điện cực chỉ thị) nhúng trong dung dịch khảo sát và duy trì một thế hiệu không đổi. Cường độ dòng điện này là một hàm số mà biến số là lượng dung dịch chuẩn độ thêm vào.

Thế của điện cực đo cần phải đủ để đảm bảo dòng khuếch tán đối với chất điện hoạt.

Máy

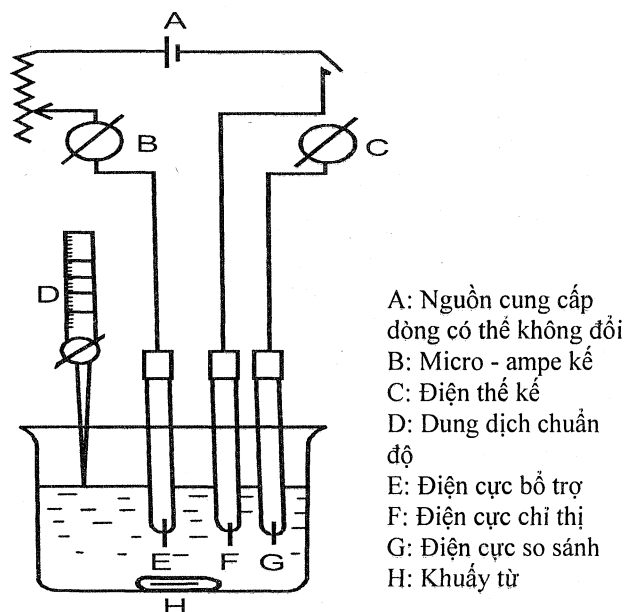
Máy gồm có một nguồn cung cấp điện thế điều chỉnh được và một đồng hồ đo microampe nhạy. Hệ thống để phát hiện nói chung gồm một điện cực chỉ thị (thí dụ: điện cực platin, điện cực giọt thủy ngân, điện cực có đĩa quay hoặc điện cực than) ghép đôi với một điện cực so sánh như điện cực calomel hoặc điện cực bạc - bạc clorid.

Có thể dùng máy có 3 điện cực, máy này ngoài điện cực chỉ thị và điện cực so sánh còn có điện cực hỗ trợ phân cực.

Cách tiến hành

Chính thế của điện cực chỉ thị theo các chỉ dẫn trong chuyên luận riêng. Lập đồ thị biểu diễn cường độ dòng ban đầu và các giá trị cường độ dòng khác thu được trong khi chuẩn độ, dưới dạng một hàm số với biến số là lượng dung dịch chuẩn độ thêm vào. Khi tổng lượng dung dịch chuẩn độ thêm vào đạt xấp xỉ 80 % thể tích lý thuyết dung dịch chuẩn độ cần dùng để đạt điểm tương đương, thêm dung dịch chuẩn độ không ít hơn 3 lần liên tiếp để tiến dần tới điểm tương đương. Các giá trị thu được này cần phải ở trên một đường thẳng. Tiếp tục thêm dung dịch chuẩn độ đến quá điểm tương đương và lại thêm không ít hơn ba lần liên tiếp dung dịch chuẩn độ nữa, các giá trị thu được lần này phải ở trên một đường thẳng khác. Điểm kết thúc của phép chuẩn độ là giao điểm của hai đường thẳng nói trên.

Trong trường hợp chuẩn độ đo ampe bằng hai điện cực chỉ thị nên ghi lại toàn bộ đường cong chuẩn độ và dùng đồ thị này để xác định điểm tương đương.



Hình 10.1 - Sơ đồ chuẩn độ đo Ampe

10.2 PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ ĐO ĐIỆN THẾ

Trong chuẩn độ đo điện thế, điểm kết thúc của chuẩn độ được xác định bằng cách quan sát sự biến đổi hiệu số điện thế đo được giữa hai điện cực (một điện cực chỉ thị và một điện cực so sánh hoặc hai điện cực chỉ thị) nhúng trong dung dịch khảo sát. Sự biến đổi này như là một hàm số mà biến số là lượng dung dịch chuẩn độ thêm vào. Điện thế thường được đo ở cường độ dòng điện bằng không hoặc thực tế bằng không.

Máy

Máy được sử dụng (máy đo thế đơn hoặc máy có tổ hợp mạch điện tử) gồm có một von kế cho phép đọc được tới 1 mV.

Tùy theo bản chất của hợp chất cần định lượng mà chọn điện cực chỉ thị, có thể là điện cực thủy tinh hoặc điện cực kim loại (như platin, vàng, bạc, thủy ngân....). Điện cực so sánh thường là điện cực calomel hoặc điện cực bạc - bạc clorid.

Trong chuẩn độ acid kiềm, trừ trường hợp có những chỉ dẫn khác của chuyên luận riêng, người ta thường dùng điện cực kép thủy tinh - calomel hoặc thủy tinh - bạc - bạc clorid.

Cách tiến hành

Lập đồ thị biểu diễn những biến đổi về điện thế tương ứng với lượng dung dịch chuẩn độ thêm vào cho đến và vượt điểm tương đương giả định. Điểm kết thúc của chuẩn độ tương ứng với điểm mà ở đó có sự thay đổi đột biến về điện thế.

10.3 ĐỊNH LƯỢNG NƯỚC BẰNG THUỐC THỬ KARL FISCHER

Nguyên tắc

Phương pháp định lượng nước này dựa trên phản ứng toàn lượng của nước với lưu huỳnh dioxyd và iod trong dung môi khan chứa một chất base hữu cơ thích hợp.

Dung môi hữu cơ thông dụng là methanol khan nước, cũng có khi được thay bằng dung môi hữu cơ khác thích hợp để hòa tan chế phẩm. Chất base hữu cơ là pyridin, nhưng hiện nay người ta đã dùng những chất base hữu cơ khác để thay thế như imidazol, 2-methylaminopyridin.

Thiết bị

Hiện nay có nhiều loại dụng cụ, nhưng nguyên tắc đều phải cấu tạo sao cho thao tác thuận tiện và tránh ẩm. Dụng cụ gồm có một cốc chuẩn độ dung tích khoảng 60 ml, có nắp gắn điện cực kép platin, một ống dẫn khí nitrogen, có lỗ cắm với buret và lỗ cắm ống thông hơi chứa chất hút ẩm. Chế phẩm cho vào bình chuẩn độ qua lỗ trên nắp hoặc miệng bên cạnh có nút mài. Trong quá trình chuẩn độ, khuấy bằng máy khuấy từ hoặc bằng luồng khí nitrogen khô đi qua dung dịch. Điểm kết thúc phản ứng được xác định bằng điện kế gắn trong mạch có biến trở 2000 ôm, nối với một nguồn pin 1,5 von. Lúc bắt đầu kim điện kế chỉ điểm không, vì dòng điện chạy qua 2 điện cực platin không đáng kể. Khi nhỏ thuốc thử Karl Fischer vào dung dịch, do hiện tượng khử cực nên kim điện kế lệch đi nhưng lập tức trở về vị trí ban đầu, chỉ khi đến điểm dừng thì một giọt thuốc thử thừa sẽ làm kim lệch đi và duy trì ít nhất 30 giây.

Thuốc thử

Thuốc thử Karl Fischer gốc gồm 4 thành phần chính là lưu huỳnh dioxyd, iod, pyridin hoặc một base hữu cơ khác và methanol pha thành một dung dịch, hoặc hai dung dịch. Trường hợp pha thành hai dung dịch thì dung dịch A chứa lưu huỳnh dioxyd và pyridin pha trong methanol khan, dung dịch B chứa iod pha trong methanol khan. Trước khi dùng 1 giờ, trộn đều 1 thể tích dung dịch A với 1 thể tích dung dịch B, sau đó xác định đương lượng nước của thuốc thử. Lượng thuốc thử thu được chỉ dùng trong ngày. Hiện nay trên thị trường vừa có các loại thuốc thử như trên, vừa có loại đã thay pyridin và methanol bằng chất kiềm hữu cơ khác và dung môi hữu cơ khác. Do vậy, cần kiểm tra kỹ thành phần thuốc thử và cách sử dụng cho đúng mục đích. Các thuốc thử Karl Fischer và dung môi dùng trong phương pháp đều phải khan nước, bảo quản trong lọ màu, tránh ánh sáng, chống ẩm và phải xác định lại đương lượng nước trước khi dùng.

Xác định đương lượng nước của thuốc thử

Đương lượng nước của thuốc thử Karl Fischer dễ bị thay đổi theo thời gian nên trước khi dùng phải xác định lại và phải đạt tối thiểu 3,5 mg nước cho 1 ml thuốc thử. Có thể xác định theo 2 cách:

a. Áp dụng xác định hàm lượng nước nhỏ hơn 1 %

Dùng một hóa chất có hàm lượng nước kết tinh xác định, sau khi đã sấy ở nhiệt độ quy định đến khối lượng không đổi để loại hết ẩm, cho tác dụng với thuốc thử rồi tính ra đương lượng. Thường dùng *natri tartrat dihydrat* ($C_4H_4Na_2O_6 \cdot 2H_2O$).

Tiến hành:

Cho một lượng *methanol khan* (TT) hoặc dung môi thích hợp dùng cho thuốc thử Karl Fischer vào cốc chuẩn độ đủ ngập điện cực platin rồi chuẩn độ bằng *thuốc thử Karl Fischer* đến điểm dừng. Cho nhanh khoảng từ 250 mg đến 350 mg *natri tartrat dihydrat* đã cân chính xác vào cốc và chuẩn độ bằng *thuốc thử Karl Fischer* đến điểm dừng, tính hệ số đương lượng nước F (tính bằng mg nước/ml thuốc thử) của thuốc thử theo công thức:

$$F = 2 \times (18,02/230,08) \times (W/V)$$

Trong đó:

18,02 và 230,08 là khối lượng phân tử của nước và của natri tartrat dihydrat;

W là khối lượng *natri tartrat dihydrat* (tính bằng mg);

V là thể tích của *thuốc thử Karl Fischer* đã dùng (tính bằng ml).

b. Áp dụng xác định hàm lượng nước lớn hơn hoặc bằng 1%.

Dùng nước tinh khiết đã chưng cất đạt tiêu chuẩn làm chất chuẩn hòa vào *methanol khan* (TT) hoặc dung môi thích hợp loại dùng cho thuốc thử Karl Fischer rồi dùng *thuốc thử Karl Fischer* để chuẩn độ.

Tiến hành:

Cho 25 ml *methanol khan* (TT) vào cốc chuẩn độ, chuẩn độ bằng *thuốc thử Karl Fischer* đến điểm dừng. Thêm nhanh khoảng 50 mg *nước tinh khiết* đã cân chính xác vào cốc chuẩn độ trên và chuẩn độ bằng thuốc thử Karl Fischer đến điểm dừng. Tính hệ số đương lượng nước F (tính bằng mg nước /ml thuốc thử) của thuốc thử theo công thức:

$$F = W/V$$

Trong đó:

W là khối lượng nước (tính bằng mg);

V là thể tích thuốc thử Karl Fischer đã dùng (tính bằng ml).

Tiến hành định lượng

Chuẩn bị mẫu thử

Nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận riêng, cân hoặc lấy chính xác một lượng chế phẩm

ước lượng chứa khoảng 10 mg đến 50 mg nước đem định lượng. Thao tác phải nhanh và thực hiện trong phòng có độ ẩm thấp để tránh ẩm ở ngoài ảnh hưởng đến chất phân tích.

Phương pháp định lượng trực tiếp

Nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận riêng, cho khoảng 20 ml *methanol khan* (TT) hoặc dung môi thích hợp dùng cho thuốc thử Karl Fischer vào cốc chuẩn độ, chuẩn độ bằng *thuốc thử Karl Fischer* đến điểm dừng. Cho nhanh một lượng chế phẩm đã chỉ dẫn trong chuyên luận riêng vào cốc chuẩn độ, đóng nút ngay, khuấy đều để phản ứng tác dụng trong khoảng 1 phút rồi tiếp tục chuẩn độ bằng thuốc thử Karl Fischer đến điểm dừng. Tính hàm lượng nước X (tính bằng mg) của chế phẩm theo công thức:

$$X = N \times F$$

Trong đó:

N là thể tích thuốc thử Karl Fischer đã dùng cho lần chuẩn độ sau khi cho chế phẩm (tính bằng ml);

F là hệ số đương lượng nước của thuốc thử Karl Fischer (tính bằng mg/ml).

Phương pháp định lượng gián tiếp

Dung dịch nước chuẩn: Pha loãng 2 ml nước tinh khiết với *methanol khan* (TT) hoặc dung môi thích hợp thành 1000 ml. Lấy chính xác 25,0 ml dung dịch này cho vào cốc định lượng và chuẩn độ bằng thuốc thử Karl Fischer vừa mới xác định độ chuẩn. Tính hàm lượng nước W (tính bằng mg/ml) của dung dịch nước chuẩn theo công thức:

$$W = V \times F/25$$

Trong đó:

V là thể tích thuốc thử Karl Fischer đã dùng (ml);

F là hệ số đương lượng nước của thuốc thử Karl Fischer (tính bằng mg/ml).

Tiến hành: Nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận riêng, cho một lượng *methanol khan* (TT), hoặc dung môi được chỉ dẫn trong chuyên luận riêng vào cốc định lượng vừa đủ ngập điện cực, chuẩn độ bằng *thuốc thử Karl Fischer* đến điểm dừng. Cho nhanh một lượng chế phẩm đã chỉ dẫn trong chuyên luận riêng vào cốc, đóng nút ngay, thêm tiếp một lượng chính xác *thuốc thử Karl Fischer* vào cốc sao cho thừa khoảng 1 ml, hoặc theo một thể tích đã chỉ dẫn trong chuyên luận riêng. Đóng nút để yên 1 phút, tránh ánh sáng, thỉnh thoảng khuấy. Chuẩn độ phần thuốc thử Karl Fischer thừa bằng dung dịch nước chuẩn vừa mới pha ở trên. Tính hàm lượng nước A (tính bằng mg) có trong chế phẩm theo công thức:

$$A = F \times V_1 - W \times V_2$$

Trong đó:

F là đương lượng nước của thuốc thử Karl Fischer (tính bằng mg/ml);

V_1 là thể tích *thuốc thử Karl Fischer* đã thêm vào (ml);

V_2 là thể tích dung dịch nước chuẩn đã dùng (ml);

W là hàm lượng nước của dung dịch nước chuẩn ở trên (tính bằng mg/ml).

Chú ý:

Cần phải kiểm tra xem chất thử có tương kỵ với thuốc thử Karl Fischer không trước khi áp dụng phương pháp này. Những chất có khả năng phản ứng với một hay nhiều thành phần của thuốc thử như acid ascorbic, các mercaptan, các sulfid, các muối hydrocarbonat và carbonat kiềm, các oxyd và hydrat của oxyd kim loại.. không áp dụng được phương pháp này. Đối với các aldehyd và ceton, hiện nay đã có loại thuốc thử dành riêng để định lượng nước trong các chất này.

Những dung môi hữu cơ sau đây có thể dùng thay thế methanol trong thuốc thử Karl Fischer khi chất thử không tan trong methanol: Cloroform, methyl celosolve, diethylen glycol monoethyl ether. Trước khi sử dụng phải làm khan bằng zeolit đạt tiêu chuẩn cho định lượng nước.

Những chất base hữu cơ sau đây có thể thay pyridin trong thuốc thử Karl Fischer: Imidazol, 2-methylaminopyridin. Phải kiểm tra hàm lượng nước trước khi dùng.

10.4 PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ BẰNG NITRIT

Chuẩn độ bằng nitrit là phương pháp định lượng thể tích, trong đó dung dịch chuẩn độ là dung dịch natri nitrit.

Phương pháp này được dùng chủ yếu để định lượng các chế phẩm có chứa nhóm amin thơm bậc nhất hoặc những chế phẩm khác mà qua biến đổi hóa học chuyển được thành hợp chất có nhóm amin thơm bậc nhất.

Cách tiến hành

Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 0,002 phân tử gam hoạt chất (hoặc theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng) hòa tan trong 20 ml *acid hydrocloric* (TT), và 50 ml *nước*. Cho thêm 2 g *kali bromid* (TT), làm lạnh trong nước đá rồi chuẩn độ bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M* (CD) (phải để đầu nhỏ dung dịch chuẩn độ của buret ngập dưới mặt dung dịch cần chuẩn độ). Trong quá trình chuẩn độ phải lắc bình liên tục, nhẹ nhàng sao cho không tạo ra dòng xoáy không khí trong dung dịch (tốt nhất là dùng máy khuấy từ). Nhỏ dung dịch chuẩn độ với tốc độ lúc đầu chừng 2 ml trong một phút, đến trước điểm tương đương khoảng 1 ml thì nhỏ từng 0,1 ml một và để yên ít nhất một phút sau mỗi lần thêm dung dịch.

Điểm kết thúc được xác định bằng phương pháp đo điện (theo hướng dẫn trong các Phụ lục 10.1, Phương pháp chuẩn độ đo ampe hoặc Phụ lục 10.2, Phương pháp chuẩn độ đo điện thế) hoặc bằng chỉ thị màu thích hợp.

10.5 PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ COMPLEXON**Nhôm (Al)**

Lấy một lượng dung dịch như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng cho vào một bình nón 500 ml. Thêm 25 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* và 10 ml hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch amoni acetat 2 M* và *acid acetic 2 M (TT)*. Đun sôi dung dịch 2 phút, để nguội, thêm 50 ml *ethanol (TT)* và 3 ml *dung dịch dithizon 0,025 % (kl/tt) mới pha trong ethanol (TT)* rồi chuẩn độ dung dịch Trilon B 0,1 M thừa bằng *dung dịch kẽm sulfat 0,1 M (CĐ)* đến khi màu của dung dịch chuyển từ xanh sang tím đỏ.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 2,698 mg Al.

Bismuth (Bi)

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, pha loãng một lượng dung dịch chế phẩm trong *acid nitric 2 M (TT)*, như chỉ dẫn trong chuyên luận với nước để thành 250 ml. Vừa lắc vừa thêm từng giọt *amoniac 13,5 M (TT)* cho đến khi tủa bắt đầu xuất hiện. Thêm 0,5 ml *acid nitric (TT)* và đun nóng đến 70 °C, duy trì nhiệt độ này cho đến khi dung dịch trong suốt. Thêm khoảng 50 mg *hỗn hợp da cam xlenol (TT)* rồi chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* đến khi màu của dung dịch chuyển từ tím hồng sang vàng.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 20,90 mg Bi.

Calci (Ca)

Lấy một lượng dung dịch chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận cho vào một bình nón 500 ml rồi pha loãng với nước thành 300 ml. Thêm 6 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và khoảng 15 mg *hỗn hợp calcon (TT)* rồi chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* đến khi màu của dung dịch chuyển từ tím sang xanh hoàn toàn.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 4,008 mg Ca.

Chì (Pb)

Lấy một lượng dung dịch chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận cho vào một bình 500 ml rồi pha loãng với nước thành 200 ml. Thêm khoảng 50 mg *hỗn hợp da cam xlenol (TT)* và một lượng *hexamin (TT)* vừa đủ để thu được dung dịch có màu hồng tím rồi chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* đến khi dung dịch chuyển sang màu vàng.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 20,72 mg Pb.

Magnesi (Mg)

Cho vào một bình nón 500 ml một lượng dung dịch chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận và pha loãng với nước thành 300 ml hoặc hòa tan một lượng chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận trong 5 ml đến

10 ml nước hoặc trong một lượng nhỏ *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* rồi pha loãng với nước thành 50 ml. Thêm 10 ml *dung dịch đệm amoniac pH 10,0 (TT)* và khoảng 50 mg *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)* vào dung dịch cuối cùng. Đun nóng dung dịch đến 40 °C và chuẩn độ ở nhiệt độ đó bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* đến khi màu của dung dịch chuyển từ tím sang xanh lam hoàn toàn.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 2,431 mg Mg.

Kẽm (Zn)

Cho vào một bình nón 500 ml một lượng dung dịch như đã chỉ dẫn trong chuyên luận rồi pha loãng với nước thành 200 ml. Thêm khoảng 50 mg *hỗn hợp da cam xlenol (TT)* và một lượng *hexamin (TT)* vừa đủ để làm dung dịch chuyển sang màu hồng tím. Thêm 2 g *hexamin (TT)* nữa rồi chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* đến khi màu của dung dịch chuyển sang vàng.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 6,54 mg Zn.

10.6 PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ TRONG MÔI TRƯỜNG KHAN

Chuẩn độ trong môi trường khan là phương pháp chuẩn độ acid và base yếu hoặc những muối của chúng trong môi trường không phải là nước.

Phương pháp 1

(Áp dụng cho base và muối của chúng)

Hòa tan một lượng chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng trong một thể tích thích hợp *acid acetic khan (TT)* đã được trung tính hóa trước với chỉ thị quy định trong chuyên luận riêng, nếu cần thiết có thể làm ấm hay làm lạnh, hoặc chuẩn bị một dung dịch như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Khi chế phẩm là muối của acid hydrocloric hoặc acid hydrobromic thì thêm 15 ml *dung dịch thủy ngân (II) acetat 5 % (TT)* trước khi trung tính dung môi, trừ khi có những chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N (CĐ)* đến khi có sự chuyển màu của chỉ thị, điều này tương ứng với giá trị tuyệt đối cao nhất của dE/dV trong chuẩn độ đo thế của chế phẩm thử, ở đây E là thế điện động và V là thể tích dung dịch chuẩn độ (Phụ lục 10.2).

Việc trung tính hóa dung dịch thủy ngân (II) acetat và chuẩn hóa dung dịch chuẩn độ cũng phải dùng cùng một chỉ thị được quy định trong chuyên luận riêng cho chuẩn độ chế phẩm.

Khi nhiệt độ t_2 của dung dịch chuẩn độ ở thời điểm định lượng khác với nhiệt độ t_1 của dung dịch chuẩn độ lúc được chuẩn hóa thì tính kết quả định lượng căn cứ vào thể tích dung dịch chuẩn độ hiệu chỉnh.

$$V(h) = V(c) \times [1 + 0,0011 (t_1 - t_2)]$$

Trong đó:

$V(h)$ là thể tích dung dịch chuẩn độ hiệu chỉnh;

$V(c)$ là thể tích dung dịch chuẩn độ đã dùng.

Tiến hành chuẩn độ mẫu trắng khi cần thiết.

Phương pháp 2

(Áp dụng cho acid yếu)

Dung dịch chuẩn độ, dung môi và chỉ thị được chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Bảo vệ dung dịch thử và dung dịch chuẩn độ khỏi sự thâm nhập của carbon dioxyd và độ ẩm của không khí trong suốt quá trình chuẩn độ.

Hòa tan chế phẩm trong một thể tích thích hợp dung môi đã trung tính hóa trước với chỉ thị quy định, nếu cần có thể làm ấm hay lạnh, hoặc chuẩn bị một dung dịch chế phẩm như đã chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Chuẩn độ cho đến khi có sự chuyển màu của chỉ thị, điều này tương ứng với giá trị tuyệt đối cao nhất của dE/dV trong chuẩn độ đo thể của chế phẩm, ở đây E là thể điện động và V là thể tích dung dịch chuẩn độ (Phụ lục 10.2).

Dung dịch chuẩn độ được chuẩn hóa bằng cách sử dụng dung môi và chỉ thị giống như đã sử dụng cho chuẩn độ chế phẩm.

Tiến hành chuẩn độ mẫu trắng khi cần thiết.

10.7 ĐỊNH LƯỢNG CÁC KHÁNG SINH HỌ PENICILIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐO IOD

Phương pháp sau đây được áp dụng để định lượng phần lớn thuốc kháng sinh họ penicillin trong Dược điển và những dạng bào chế của chúng mà phép chuẩn độ đo iod là đặc biệt thích hợp. Tiến hành thí nghiệm ở nhiệt độ $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

Dung dịch chuẩn

Cân chính xác một lượng thích hợp chất chuẩn quy định trong từng chuyên luận, hòa tan vào dung môi đã được ghi trong Bảng 10.7 và pha loãng với cùng dung môi đó để được một dung dịch có nồng độ ở khoảng nồng độ quy định trong Bảng 10.7.

Dung dịch thử

Nếu không có chỉ định gì khác trong chuyên luận riêng, cân chính xác một lượng mẫu thử thích hợp hòa tan trong dung môi ghi trong Bảng 10.7 và pha loãng với dung môi đó để được một dung dịch có nồng độ ở vào khoảng nồng độ ghi trong Bảng 10.7.

Phương pháp tiến hành

Làm mất hoạt tính và chuẩn độ: Hút riêng rẽ 2,0 ml dung dịch chuẩn và 2,0 ml dung dịch thử vào 2 bình nón nút mài dung tích 125 ml tương ứng. Thêm vào mỗi bình 2,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 1,0 N (TT)*,

lắc đều và để yên 15 phút. Tiếp tục cho vào mỗi bình 2,4 ml *dung dịch acid hydrochloric 1,0 N (TT)*, thêm 10,0 ml *dung dịch iod 0,01 N (CĐ)*, đậy ngay nút bình và để yên 15 phút. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đến gần điểm kết thúc, thêm 1 giọt *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và tiếp tục chuẩn độ đến khi mất màu xanh.

Mẫu trắng

Hút 2,0 ml dung dịch chuẩn cho vào một bình nón nút mài, thêm 10,0 ml *dung dịch iod 0,01 N (CĐ)*. Nếu dung dịch chuẩn là amoxicilin hay ampicilin thì thêm ngay lập tức 0,12 ml *dung dịch acid hydrochloric 1,0 N (TT)*. Chuẩn độ ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đến gần điểm kết thúc, thêm 1 giọt *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và tiếp tục chuẩn độ đến khi mất màu xanh. Cũng làm như vậy đối với bình có chứa 2,0 ml dung dịch thử.

Tính toán

Tính đương lượng F [số microgam (hay đơn vị) kháng sinh chuẩn tương ứng với mỗi ml dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)] bằng công thức:

$$\frac{2 \times C \times P}{B - I}$$

Trong đó:

C là nồng độ chất chuẩn tính bằng mg trong 1 ml của dung dịch chuẩn;

P là hoạt lực tính bằng microgam (hay đơn vị) trong 1 mg của chất chuẩn;

B là thể tích tính bằng ml của *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* tiêu thụ trong mẫu trắng của dung dịch chuẩn;

I là thể tích tính bằng ml của *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* tiêu thụ trong phép thử làm mất hoạt tính và chuẩn độ của dung dịch chuẩn;

Bảng 10.7. Những dung môi và nồng độ cuối cùng của dung dịch kháng sinh

Chất kháng sinh	Dung môi	Nồng độ cuối cùng
Amoxicilin	Nước	1,0 mg /ml
Ampicilin	Nước	1,25 mg /ml
Ampicilin natri	Đệm phosphat pH 6,0	1,25 mg /ml
Cloxacilin natri	Nước	1,25 mg /ml
Dicloxacilin natri	Đệm phosphat pH 6,0	1,25 mg /ml
Methicilin natri	Đệm phosphat pH 6,0	1,25 mg /ml
Oxacilin natri	Đệm phosphat pH 6,0	1,25 mg /ml
Penicilin*G kali	Đệm phosphat pH 6,0	2000 đơn vị /ml
Penicilin G natri	Đệm phosphat pH 6,0	2000 đơn vị /ml
Penicilin V kali	Đệm phosphat pH 6,0	2000 đơn vị /ml

10.8 ĐỊNH LƯỢNG CÁC STEROID BẰNG TETRAZOLIUM

Phương pháp này được áp dụng để định lượng các steroid chứa các nhóm chức có tính khử.

Các sản phẩm của phản ứng màu này có khuynh hướng hấp phụ lên bề mặt của thủy tinh. Để tránh sự sai lệch kết quả, nên xử lý các bình phản ứng thủy tinh bằng cách để chúng chứa chính các sản phẩm của phản ứng màu này trước khi dùng. Nên giữ các bình thủy tinh đã được xử lý để dùng riêng cho phép định lượng này và chỉ rửa bình bằng nước giữa các lần định lượng. Phương pháp này được tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Dung dịch thử

Trừ khi có chỉ dẫn cụ thể trong chuyên luận riêng, hòa tan một lượng chế phẩm trong *ethanol không có aldehyd (TT)* để thu được một dung dịch thử có nồng độ từ 30 đến 35 $\mu\text{g/ml}$.

Dung dịch chuẩn

Chuẩn bị một dung dịch chất chuẩn tương ứng trong *ethanol không có aldehyd (TT)* có nồng độ tương đương với nồng độ của dung dịch thử.

Tiến hành

Lấy chính xác 10 ml mỗi dung dịch thử và dung dịch chuẩn cho vào hai bình định mức 25 ml riêng biệt và cho 10 ml *ethanol không có aldehyd (TT)* vào một bình định mức 25 ml thứ ba. Lần lượt thêm vào các bình 2 ml *dung dịch triphenyltetrazolium clorid (TT)*, 2 ml *dung dịch tetramethylamoni hydroxyd loãng (TT)*. Đậy bình, trộn đều bằng cách lắc xoay tròn nhẹ nhàng và ngâm các bình phản ứng này trong cách thủy ở 30 °C trong 1 giờ, trừ khi có quy định cụ thể trong chuyên luận riêng. Làm lạnh nhanh, thêm *ethanol không có aldehyd (TT)* đến định mức 25 ml. Lắc đều và đo ngay độ hấp thụ ánh sáng của các dung dịch thu được trong hai bình đầu (theo thứ tự khi cho thuốc thử) ở cực đại 485 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo có nắp đậy, lấy dung dịch thu được trong bình thứ ba làm mẫu trắng.

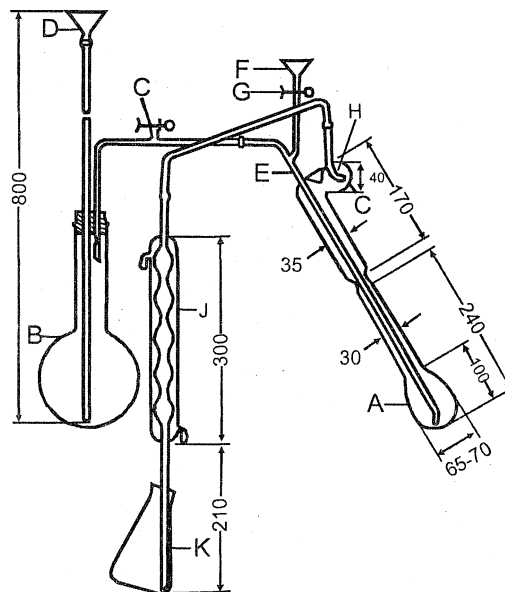
10.9 ĐỊNH LƯỢNG NITROGEN TRONG HỢP CHẤT HỮU CƠ

Nitrogen trong hợp chất hữu cơ được định lượng dưới dạng amoniac trong amoni sulfat thu được khi vô cơ hóa các hợp chất hữu cơ có chứa nitrogen với acid sulfuric.

Dụng cụ

Bộ dụng cụ định lượng nitrogen có thể được chế tạo nguyên bộ chuyên dùng cất amoniac hoặc được lắp ghép từ các dụng cụ thủy tinh cần thiết với nhau sao cho đảm bảo đủ các bộ phận và yêu cầu như Hình 10.9. Các phần bằng cao su của thiết bị nên được xử

lý bằng cách đun sôi 10 phút đến 30 phút trong *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, tiếp theo 30 phút đến 60 phút trong *nước*, cuối cùng rửa lại bằng *nước* trước khi dùng.



Hình 10.9. Dụng cụ định lượng nitrogen

A. Bình Kjeldahl để vô cơ hóa mẫu thử và thực hiện phản ứng.

B. Bình cầu để cung cấp hơi nước.

C. Phần thu hồi hơi.

D. Phễu cấp nước vào bình B.

E. Ống dẫn hơi nước từ bình B sang bình phản ứng A.

F. Phễu cấp dung dịch kiểm vào bình phản ứng A.

G. Ống nối bằng cao su có kẹp khóa.

H. Lỗ nhỏ có đường kính bằng đường kính ống cấp hơi.

J. Ống sinh hàn.

K. Bình hứng dịch cất được.

Ghi chú: Đơn vị đo ghi trong hình tính bằng milimet (mm).

Cách tiến hành

Nếu chuyên luận riêng không có chỉ dẫn gì đặc biệt thì tiến hành như sau:

Phương pháp 1

a. Vô cơ hóa

Lấy chính xác một lượng mẫu thử có chứa khoảng 5 mg nitrogen cho vào bình Kjeldahl A, thêm 1 g hỗn hợp *kali sulfat (TT)* hoặc *natri sulfat khan (TT)* và *đồng sulfat (TT)* (tỷ lệ 10 : 1) đã được tán nhỏ, 7 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* và vài viên bi thủy tinh. Đậy bình bằng một phễu có cuống dài. Đặt bình nghiêng 45° trên ngọn lửa nhỏ để hỗn hợp nóng lên từ từ rồi tăng dần nhiệt độ tới khi sôi và tiếp tục đun tới khi chất lỏng trong bình có màu lục tươi và không còn những đốm đen của chất hóa than trên thành bình.

Nếu chất lỏng trong bình chưa chuyển sang màu lục tươi, có thể thêm 1 ml đến 2 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 100 tt (TT)* khi đã để nguội và đun tiếp đến khi thu được màu này. Đun thêm 30 phút nữa, để nguội.

b. Chuẩn bị cất

Thêm 20 ml *nước cất* vào bình Kjeldahl đã vô cơ hóa, để nguội trở lại rồi lắp bình này vào bộ dụng cụ cất đã được làm sạch trước bằng cách cho hơi nước chạy qua. Nếu bộ dụng cụ cất amoniac có bình phản ứng A gắn liền thì dùng 20 ml *nước cất* để chuyển hỗn hợp từ bình Kjeldahl vào bình phản ứng.

Cho *nước cất* vào khoảng 2/3 bình cấp hơi nước B, thêm vài giọt *acid sulfuric (TT)* để acid hóa chống sự thâm nhập của amoniac từ không khí.

Lấy chính xác 30,0 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)* và 2 giọt *dung dịch hỗn hợp đỏ methyl (TT)* cho vào bình hứng K.

Lắp nối các bộ phận với nhau như hình vẽ sao cho tạo thành một hệ thống kín, đầu cuối của ống sinh hàn thu dịch cất được phải ngập sâu trong dung dịch của bình hứng K.

c. Tiến hành cất

Khi việc chuẩn bị cất đã hoàn tất, cho nước lạnh chảy qua ống sinh hàn và bắt đầu đun nước trong bình B. Khi nước sôi thì cho vào bình phản ứng A qua phễu F từng ít một 30 ml *dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT)* (đổ hết lượng kiềm này vào phễu F và dùng kẹp G điều chỉnh cho dung dịch kiềm chảy xuống từ từ, khi xong khóa chặt kẹp lại). Tiếp tục cất đến khi hứng được khoảng 100 ml dịch cất. Hạ thấp bình hứng và rửa đầu sinh hàn với một ít *nước*.

d. Chuẩn độ

Chuẩn độ acid sulfuric thừa trong bình hứng dịch cất bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* tới khi chuyển sang màu vàng, ghi số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đã dùng (a ml).

Tiến hành song song một mẫu trắng theo trình tự trên. Ghi số ml dung dịch natri hydroxyd 0,02 N đã dùng (b ml).

Tính kết quả: Lượng nitrogen trong mẫu thử (X) tính bằng gam theo công thức:

$$X = (b - a) \times 0,00028$$

Phương pháp 2

Áp dụng cho mẫu thử có lẫn nitrat và nitrit.

Tiến hành tương tự như phương pháp 1 nhưng giai đoạn vô cơ hóa cần tiến hành loại trừ ảnh hưởng của nitrat và nitrit như sau:

Sau khi cho mẫu thử vào bình Kjeldahl A, thêm 10 ml *acid sulfuric (TT)* đã hòa tan 0,4 g *acid salicylic (TT)*, lắc đều và để yên 30 phút (thỉnh thoảng lắc đều). Thêm 2 g *natri thiosulfat (TT)*, lắc đều, thêm 200 mg bột *đồng sulfat khan (TT)* rồi tiến hành vô cơ hóa

giống như phương pháp 1 bắt đầu từ đoạn "đặt bình nghiêng 45°.."

10.10 ĐỊNH LƯỢNG VITAMIN A

Hoạt lực của vitamin A được tính theo đơn vị quốc tế (ký hiệu IU). 1 IU vitamin A tương đương với 0,300 µg retinol; 0,344 µg retinyl acetat; 0,359 µg retinyl propionat hoặc 0,550 µg retinyl palmitat.

Vitamin A rất dễ bị oxy hóa nên điều kiện tiến hành chung là phải nhanh chóng, tránh ánh sáng và sử dụng kèm theo chất chống oxy hóa.

Tùy theo đặc điểm của vitamin A trong các thuốc và nguyên liệu làm thuốc mà áp dụng 1 trong 5 phương pháp dưới đây để định lượng.

Phương pháp 1

(Phương pháp đo quang trực tiếp)

Có thể áp dụng đối với các nguyên liệu vitamin A ester tổng hợp (retinyl acetat, retinyl propionat hoặc retinyl palmitat...) và các dầu hoặc nang mềm chứa vitamin A ester với hàm lượng lớn (≥ 5000 IU/g).

Cân chính xác khoảng từ 25 mg đến 100 mg chế phẩm và đem hòa tan trong 5 ml *pentan (TT)* rồi pha loãng trong *isopropanol (TT_I)* để được dung dịch chứa chính xác khoảng 10 IU đến 15 IU vitamin A trong 1 ml. Xác định bước sóng có hấp thụ cực đại và đo độ hấp thụ của dung dịch tại các bước sóng 300 nm, 326 nm, 350 nm và 370 nm trong cốc đo dày 1 cm, dùng *isopropanol (TT_I)* làm mẫu trắng. Tính tỷ lệ độ hấp thụ tại các bước sóng 300 nm, 350 nm và 370 nm so với độ hấp thụ tại bước sóng 326 nm (A_λ/A_{326}).

Nếu cực đại hấp thụ nằm trong dải sóng từ 325 nm đến 327 nm và tỷ lệ A_λ/A_{326} không lớn hơn các giá trị ghi dưới đây:

$$0,593 \text{ ở } \lambda = 300 \text{ nm}$$

$$0,537 \text{ ở } \lambda = 350 \text{ nm}$$

$$0,142 \text{ ở } \lambda = 370 \text{ nm}$$

thì tính kết quả hàm lượng vitamin A trong mẫu thử (IU/g) theo công thức:

$$\frac{A_{326} \times 1900 \times V}{100 \times m} \text{ (IU / g) (1)}$$

Trong đó:

A_{326} là độ hấp thụ tại bước sóng 326 nm;

m là lượng chế phẩm đem thử (g);

V là lượng thể tích dung dịch thu được sau khi pha loãng để đem đo (ml);

1900 là hệ số chuyển đổi độ hấp thụ riêng của ester retinol thành IU/g;

Nếu cực đại hấp thụ nằm ngoài dải sóng từ 325 nm đến 327 nm hoặc có một giá trị A_λ/A_{326} lớn hơn giá trị quy định thì kết quả không có giá trị, tiến hành định lượng chế phẩm này theo phương pháp 2 hoặc 3 hoặc 4.

Phương pháp 2

(Phương pháp đo quang sau khi chiết tách vitamin A)

Có thể áp dụng cho các nguyên liệu vitamin A có nguồn gốc tự nhiên và đa số các dạng thuốc chứa vitamin A: thuốc nang, viên nén, thuốc bột, thuốc mỡ, dầu gan cá...

Lấy chính xác một lượng chế phẩm không ít hơn 500 IU vitamin A và không nhiều hơn 1 gam chất béo cho vào bình nút mài, thêm 30 ml *ethanol* (TT), 3 ml *dung dịch kali hydroxyd bão hòa*, vài viên đá mầm sôi, đun sôi 30 phút trên cách thủy có lắp ống sinh hàn hồi lưu, dưới dòng khí nitrogen không có oxygen. Làm nguội nhanh rồi dùng 30 ml *nước cất* chuyển hết hỗn hợp sang bình gạn, thêm 4 gam *natri sulfat* (TT) đã nghiền mịn. Chiết vitamin A với 150 ml *ether* (TT) và lắc 2 phút [nếu tạo thành nhũ tương thì chiết thêm 3 lần nữa, mỗi lần với 25 ml *ether* (TT)]. Tập trung dịch chiết lại rồi rửa dịch chiết 4 lần, mỗi lần 50 ml *nước cất*, chú ý lắc rất nhẹ nhàng ở 2 lần đầu để tránh tạo thành nhũ tương. Làm bay hơi dịch chiết ether trên cách thủy dưới dòng khí nitrogen không có oxygen hoặc cất quay chân không ở nhiệt độ không quá 30 °C đến hết dung môi. Hòa tan cặn trong một lượng *isopropanol* (TT) vừa đủ để thu được dung dịch chứa 10 đến 15 IU vitamin A trong 1 ml.

Đo độ hấp thụ của dung dịch này ở các bước sóng 300 nm, 310 nm, 325 nm, và 334 nm trong cốc dày 1 cm với mẫu trắng là *isopropanol* (TT), sau đó xác định bước sóng có hấp thụ cực đại.

Nếu cực đại hấp thụ nằm trong dải sóng từ 323 nm đến 327 nm và tỷ lệ $A_{300}/A_{325} \leq 0,73$ thì kết quả được tính như sau:

Tính độ hấp thụ hiệu chỉnh $A_{325(K)}$:

$$A_{325(K)} = 6,815A_{325} - 2,555A_{310} - 4,260A_{334}$$

Nếu $A_{325(K)}/A_{325} \geq 0,970$ thì tính kết quả hàm lượng vitamin A trong mẫu thử (IU/g) theo công thức sau:

$$\frac{A_{325} \times 1830 \times V}{100 \times m} \quad (\text{IU/g})$$

Trong đó:

A_{325} là độ hấp thụ quang tại bước sóng 325nm;

m là lượng chế phẩm đem thử (g);

V là lượng thể tích dung dịch thu được sau khi hòa tan để đem đo (ml);

Nếu $A_{325(K)}/A_{325} < 0,970$ thì kết quả vẫn tính theo công thức trên nhưng thay A_{325} bằng $A_{325(K)}$.

Nếu cực đại hấp thụ nằm ngoài khoảng 323 nm đến 327 nm hoặc tỷ lệ $A_{300}/A_{325} > 0,73$ thì phải tiến hành theo phương pháp 5.

Chú ý:

Trong cách tiến hành của phương pháp 2 nếu chế phẩm ở dạng thuốc nang, viên nén hoặc chất rắn khác nhau sau khi đã bỏ vỏ, nghiền thành bột mà vẫn không xà phòng hóa được (do ở dạng vi nang) thì phải xử lý trước bằng cách đun nóng với 10 ml *nước cất* trên

cách thủy 5 phút, dùng thìa thủy tinh nghiền nhỏ các chất rắn còn lại và giữ nóng 5 phút nữa.

Khi tiến hành xà phòng hóa, nếu không có khí nitrogen có thể thay thế bằng cách cho chất chống oxy hóa vào bình phản ứng như 3 ml *dung dịch hydroquinon 1 % trong ethanol*, hoặc 30 mg BHT [*butyl hydroxytoluen* (TT)].

Để chiết vitamin A có thể thay ether bằng ether dầu hỏa hoặc n-hexan.

Phương pháp 3

(Phương pháp sắc ký lỏng trực tiếp)

Có thể áp dụng đối với các nguyên liệu vitamin A tổng hợp, các thành phẩm chứa vitamin A tổng hợp mà trong thành phần chỉ chứa vitamin A ở một dạng ester đồng nhất hoặc dạng retinol.

Tiến hành theo phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol* - *ethyl acetat* - *nước* (90 : 7 : 3).

Dung dịch thử:

Lấy chính xác một lượng chế phẩm có chứa khoảng 4000 IU vitamin A cho vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm *ethanol* (TT), lắc kỹ rồi thêm *ethanol* (TT) đến định mức, lắc đều, lọc.

Dung dịch chuẩn:

Pha chất chuẩn vitamin A (dạng giống với dung dịch thử: retinol, retinyl acetat, retinyl palmitat ...) trong *ethanol* (TT) để thu được dung dịch chuẩn có nồng độ vitamin A chính xác khoảng 40 IU/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm hoặc 10 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 325 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min đến 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn (RSD) không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Cách tính kết quả:

Hàm lượng vitamin A trong mẫu thử (IU/g) được tính theo công thức:

$$\frac{S_T \times C \times 100}{S_C \times m_T} \quad (\text{IU/g})$$

Trong đó:

S_T và S_C là diện tích của pic vitamin A trên sắc đồ của thử và chuẩn;

m_T là lượng cân mẫu thử (g);

C là nồng độ dung dịch chuẩn đem tiêm sắc ký (IU/ml).

Chú ý:

Trong việc chuẩn bị dung dịch thử, nếu chế phẩm ở dạng thuốc nang, viên nén hoặc chất rắn khác nhau, sau khi bỏ vỏ, nghiền thành bột, mà vitamin A vẫn không hòa tan được trong ethanol (do ở dạng vi nang) thì phải xử lý trước bằng cách đun nóng với 10 ml nước cất trên cách thủy 5 phút, dùng đũa thủy tinh nghiền nhỏ các khối rắn còn lại và giữ nóng thêm 5 phút nữa rồi mới cho ethanol vào để hòa tan.

Nếu mẫu thử có nhiều tá dược dạng dầu thì nên thêm 2 ml ethyl acetat (TT) hoặc 2 ml n-hexan (TT) và lắc kỹ trước khi cho ethanol vào để hòa tan.

Nếu trên sắc đồ thu được ngoài pic của dạng vitamin A cần đo còn có pic của dạng vitamin A khác thì phải tiến hành theo phương pháp 2 hoặc 5.

Phương pháp 4**(Phương pháp sắc ký lỏng sau khi thủy phân)**

Có thể áp dụng đối với nguyên liệu vitamin A tổng hợp dạng bột, dạng dầu và dạng nhũ tương.

Tiến hành theo phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp methanol - nước (95 : 5).

Dung dịch thử:

Dung dịch thử A:

Đối với nguyên liệu dạng bột: Lấy chính xác một lượng chế phẩm có chứa khoảng 120000 IU vitamin A cho vào bình định mức dung tích 50 ml. Thêm khoảng 20 mg đến 30 mg bromelains (TT), 20 mg đến 30 mg BHT (TT), 2,0 ml nước và 0,15 ml isopropanol (TT). Làm nóng trong cách thủy ở 60 °C đến 65 °C trong thời gian 2 đến 5 phút. Làm lạnh tới 30 °C rồi thêm 20 ml dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M trong isopropanol. Lắc siêu âm 5 phút. Thêm isopropanol (TT) đến vạch, lắc đều (lắc xoay tròn, tránh tạo bọt khí).

Đối với nguyên liệu dạng dầu hoặc nhũ tương: Lấy chính xác một lượng chế phẩm có chứa khoảng 120000 IU vitamin A cho vào bình định mức dung tích 50 ml, hòa tan ngay trong 5 ml pentan (TT). Thêm khoảng 20 mg đến 30 mg BHT (TT) và 20 ml dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M trong isopropanol. Lắc siêu âm 5 phút. Thêm isopropanol (TT) đến vạch, lắc đều (lắc xoay tròn, tránh tạo bọt khí).

Dung dịch thử B:

Cho khoảng 20 mg đến 30 mg BHT (TT) vào bình định mức dung tích 50 ml, thêm 5 ml isopropanol (TT), lắc cho tan, thêm 5,0 ml dung dịch thử A, thêm isopropanol (TT) tới vạch, lắc đều, lọc.

Dung dịch chuẩn:

Dung dịch chuẩn A:

Cân chính xác một lượng chất chuẩn retinyl acetat tương đương với 120000 IU vitamin A cho vào bình định mức dung tích 50 ml. Thêm ngay 5 ml pentan (TT), thêm khoảng 20 mg đến 30 mg BHT (TT) và

20 ml dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M trong isopropanol. Lắc siêu âm 5 phút. Thêm isopropanol (TT) đến vạch, lắc đều (lắc xoay tròn, tránh tạo bọt).

Dung dịch chuẩn B:

Cho khoảng 20 mg đến 30 mg BHT (TT) vào bình định mức dung tích 50 ml, thêm 5 ml isopropanol (TT), lắc cho tan, thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn A rồi thêm isopropanol (TT) đến vạch, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm hoặc 10 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 325 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Giống như phương pháp 3 với dung dịch chuẩn B và dung dịch thử B.

Cách tính kết quả:

Hàm lượng vitamin A trong mẫu thử (IU/g) được tính theo công thức:

$$\frac{S_T \times C \times m_C}{S_C \times m_T} \text{ (IU/g)}$$

Trong đó:

S_T , S_C là diện tích pic của vitamin A trên sắc đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn;

m_C , m_T là lượng cân mẫu chuẩn, thử (g);

C là hàm lượng chất chuẩn vitamin A (IU/g).

Kết quả được chấp nhận nếu:

Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn (RSD) không lớn hơn 2,0 %.

Trên sắc đồ của dung dịch thử B ngoài pic của retinol không có pic của retinyl acetat chưa thủy phân.

Phương pháp 5**(Phương pháp sắc ký lỏng sau khi chiết tách vitamin A)**

Có thể áp dụng đối với các chế phẩm phức tạp và có chứa vitamin A với hàm lượng thấp không thực hiện được 1 trong 4 phương pháp trên.

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp methanol - nước (97 : 3).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm hoặc 10 μm).

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 325 nm.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Dung dịch thử:

Lấy chính xác một lượng chế phẩm có chứa khoảng 2000 IU vitamin A đem xà phòng hóa, chiết và bay hơi dịch chiết đến cạn giống như phương pháp 2. Hòa tan cân thu được và chuyển hỗn hợp sang bình định mức 50 ml với isopropanol (TT).

Dung dịch chuẩn gốc:

Hòa tan chất chuẩn retinyl acetat trong *isopropanol* (TT_1) để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 1000 IU vitamin A trong 1 ml. Xác định nồng độ chính xác của dung dịch chuẩn gốc bằng cách pha loãng trong *isopropanol* (TT_1) tới nồng độ 10 đến 15 IU trong 1 ml rồi đo độ hấp thụ ở bước sóng 326 nm trong cốc đo dày 1 cm, dùng *isopropanol* (TT_1) làm mẫu trắng.

Tính nồng độ vitamin A trong dung dịch chuẩn gốc (IU/ml) theo công thức:

$$\frac{A_{326} \times 1900 \times V_2}{100 \times V_1} \text{ (IU/ml)}$$

Trong đó :

A_{326} là độ hấp thụ quang của dung dịch ở 326 nm;

V_1 là thể tích dung dịch chuẩn gốc đem pha loãng (ml);

V_2 là thể tích dung dịch loãng đã pha (ml).

Dung dịch chuẩn:

Lấy chính xác 2 ml dung dịch chuẩn gốc đem xử lý hoàn toàn như mẫu thử. Xác định nồng độ chính xác của dung dịch chuẩn bằng cách pha loãng trong *isopropanol* (TT_1) tới nồng độ 10 IU đến 15 IU trong 1 ml rồi đo độ hấp thụ ở bước sóng 325 nm trong cốc đo dày 1 cm, dùng *isopropanol* (TT_1) làm mẫu trắng.

Tính nồng độ vitamin A trong dung dịch chuẩn (IU/ml) theo công thức:

$$\frac{A_{325} \times 1830 \times V_4}{100 \times V_3} \text{ (IU/ml)}$$

Trong đó :

A_{325} là độ hấp thụ của dung dịch ở 325 nm;

V_3 là thể tích dung dịch chuẩn đem pha loãng (ml);

V_4 là thể tích dung dịch loãng đã pha (ml).

Cách tiến hành :

Giống như phương pháp 3.

Kết quả được chấp nhận nếu đáp ứng 3 yêu cầu sau:

Pic retinol thu được từ dung dịch thử có thời gian lưu giống với pic thu được từ dung dịch chuẩn.

Khi dùng phương pháp thêm chuẩn vào dung dịch thử thì khả năng tìm lại phải lớn hơn 95 %.

Nồng độ dung dịch chuẩn xác định bằng phương pháp đo quang phải lớn hơn 95 % so với nồng độ tính từ dung dịch chuẩn gốc.

Tính kết quả:

Hàm lượng vitamin A trong mẫu thử (IU/g) được tính theo công thức:

$$\frac{A_1 \times C \times V}{A_2 \times m}$$

Trong đó :

A_1 là diện tích pic của retinol trên sắc đồ của dung dịch thử;

A_2 là diện tích pic của retinol trên sắc đồ của dung dịch chuẩn;

C là nồng độ dung dịch chuẩn gốc đã pha (IU/ml);

m là lượng chế phẩm đem xử lý thành dung dịch thử (g);

V là thể tích dung dịch chuẩn gốc đã đem xử lý (ml).

10.11 PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH ACID AMIN

Phương pháp phân tích acid amin là phương pháp xác định thành phần và hàm lượng các acid amin trong các protein và peptid; cũng như trong các chế phẩm thuốc. Phương pháp phân tích acid amin được áp dụng để định tính và định lượng các protein và peptid dựa trên các cấu tử acid amin tạo ra chúng, để giúp việc xác định cấu trúc của các protein và peptid cũng như việc xác định cách phân đoạn của chúng nhằm thiết lập giản đồ peptid và để phát hiện các acid amin không điển hình có thể có mặt trong một protein hoặc peptid. Trước khi phân tích acid amin trong protein hoặc peptid, cần thiết phải thủy phân protein hoặc peptid thành các acid amin. Sau đó tiến hành phân tách các acid amin thu được giống như khi ta phân tách các acid amin tự do có trong các chế phẩm thuốc. Điều quan trọng là chúng phải được biến đổi thành các dẫn chất thích hợp cho việc phân tách và phát hiện.

Thiết bị

Các phương pháp để phân tích acid amin thường dựa trên việc tách các acid amin có trong mẫu thử bằng phương pháp sắc ký. Các thiết bị sắc ký tự động thường chiếm lợi thế. Thiết bị phân tích acid amin điển hình là một máy sắc ký lỏng áp suất thấp hoặc áp suất cao, có khả năng thực hiện chương trình dung môi để tách các acid amin khi qua cột sắc ký. Máy cần có thêm thiết bị tạo dẫn chất acid amin sau cột, trừ khi mẫu thử được tạo thành dẫn chất trước cột. Để phát hiện kết quả, thường dùng detector hấp thụ tử ngoại - khả kiến hoặc detector huỳnh quang, tùy thuộc vào cách tạo dẫn chất đã áp dụng. Một thiết bị tích phân cho phép chuyển đổi tín hiệu tương tự đi từ detector ra và cho phép định lượng.

Thường sử dụng các máy chuyên dùng để phân tích acid amin.

Chú ý

Nhiều đường nền luôn là mối quan tâm của người tiến hành phân tích acid amin. Để khắc phục, phải dùng các thuốc thử có độ tinh khiết cao (thí dụ acid hydrocloric có độ tinh khiết thấp có thể gây nhiễm glycin). Thông thường cách một vài tuần lại phải thay mới các thuốc thử. Chỉ dùng các dung môi dùng cho sắc ký lỏng. Lọc lại các dung môi trước khi dùng để giảm thiểu sự nhiễm khuẩn và các tạp chất. Đậy kín các bình đựng dung môi. Không để các thiết bị phân tích acid amin tiếp xúc trực tiếp với tia sáng mặt trời.

Chất lượng thực hành phòng thí nghiệm có thể quyết định chất lượng phân tích acid amin. Giữ phòng thí nghiệm sạch sẽ. Đặt thiết bị phân tích trong phòng thí nghiệm tại chỗ riêng biệt, ít bị ảnh hưởng của các hoạt động khác. Định kỳ rửa sạch và chuẩn hóa lại các pipet. Bảo quản đầu pipet trong hộp đậy kín. Không được cầm đầu pipet bằng tay trần, phải mang găng tay bằng cao su không xoa bột talc hoặc có chất lượng tương đương. Hạn chế số lần mở và đóng bình đựng mẫu thử vì bụi có thể làm gia tăng kết quả về hàm lượng các chất glycin, serin và alanin.

Cần bảo dưỡng tốt thiết bị phân tích acid amin để có kết quả chấp nhận được. Nếu thiết bị được dùng thường ngày thì hàng ngày phải kiểm tra độ rò rỉ dung môi của thiết bị, độ ổn định của đèn và detector, độ phân giải của cột.

Định kỳ làm sạch hoặc thay thế các kính lọc của thiết bị và các linh phụ kiện cần bảo dưỡng khác.

Các chất đối chiếu

Trên thị trường có sẵn các acid amin chuẩn để dùng trong phân tích acid amin; chúng thường là dung dịch hỗn hợp các acid amin chuẩn trong nước. Khi cần xác định thành phần acid amin trong một mẫu thử, các protein hoặc peptid chuẩn phải được phân tích song song với mẫu thử để kiểm tra sự toàn vẹn của thử nghiệm. Trong trường hợp này, chuẩn protein được sử dụng là albumin huyết thanh bò tinh khiết cao.

Chuẩn hóa thiết bị

Việc chuẩn hóa thiết bị phân tích acid amin được thực hiện bằng cách phân tích một chuẩn acid amin, gồm hỗn hợp các acid amin chuẩn đã biết trước hàm lượng của từng chất, để xác định hệ số đáp ứng và khoảng tuyến tính ứng với mỗi một acid amin chuẩn đã thử.

Pha loãng mẫu chuẩn acid amin thành nhiều dung dịch có nồng độ khác nhau, nằm trong khoảng tuyến tính dự đoán trước của các acid amin có trong mẫu chuẩn. Tiến hành phân tích nhiều lần với mỗi nồng độ. Biểu thị kết quả thu được trên biểu đồ thể hiện tương quan giữa diện tích pic thu được ứng với mỗi nồng độ của acid amin đã thử. Nhờ biểu đồ này, có thể xác định được khoảng tuyến tính của mỗi acid amin, tại đó, các diện tích pic thu được có tương quan xấp xỉ tuyến tính với các nồng độ của các acid amin đã thử. Khi phân tích acid amin, để có kết quả đúng và lặp lại, điều quan trọng là phải pha và thử nghiệm trên các mẫu thử có nồng độ nằm trong khoảng tuyến tính tương ứng với kỹ thuật phân tích đang áp dụng.

Để xác định hệ số đáp ứng cho mỗi acid amin, ta phân tích từ 4 nồng độ đến 6 nồng độ của acid amin chuẩn tương ứng. Hệ số đáp ứng tính được là giá trị trung bình của diện tích pic (hoặc của chiều cao pic) ứng với nồng độ 1 nanomol của dung dịch acid amin chuẩn. Thiết lập một dãy chuẩn hóa bao gồm hệ số

đáp ứng tương ứng của các acid amin và sử dụng dãy này để tính nồng độ (nanomol) của mỗi acid amin có trong mẫu thử bằng cách chia diện tích pic (hoặc chiều cao pic) thu được của acid amin đó cho hệ số đáp ứng tương ứng có trong dãy chuẩn hóa.

Trong việc phân tích thường ngày, khi dùng dãy chuẩn hóa, ta chỉ cần xác định một diện tích pic là đủ. Tuy nhiên, dãy chuẩn hóa này phải thường xuyên được thử lại bằng các phân tích kiểm tra và được cập nhật để bảo đảm tính toàn vẹn của nó.

Độ lặp lại

Muốn có các kết quả phân tích acid amin có chất lượng ổn định tại một phòng thí nghiệm phân tích, cần quan tâm đến độ lặp lại của phép định lượng. Cần có một hệ thống thiết bị phân tích các acid amin có khả năng cung cấp các giá trị lặp lại của thời gian lưu của pic (để định tính) và các giá trị lặp lại của diện tích pic (để định lượng). Cách xác định tiêu biểu độ lặp lại bao gồm việc pha chế một dung dịch chuẩn các acid amin, rồi tiến hành đo mẫu đó nhiều lần (6 lần hoặc nhiều hơn). Sau đó, tính độ lệch chuẩn của các giá trị thời gian lưu và độ lệch chuẩn các giá trị diện tích pic đã được tích phân, ứng với mỗi acid amin đã được phân tích. Việc xác định độ lặp lại còn được mở rộng bằng cách nhiều người phân tích khác nhau cùng tiến hành xác định độ lặp lại đó trong nhiều ngày. Người ta còn thực hiện việc định lượng nhiều dung dịch có nồng độ khác nhau của chuẩn gốc để xác định sự biến thiên do việc pha chế mẫu thử. Thường người ta phân tích thành phần acid amin của một protein chuẩn (ví dụ albumin huyết thanh bò) để đánh giá độ lặp lại. Nhờ việc xác định độ lệch chuẩn, ta có thể thiết lập các giới hạn phân tích để đạt kết quả tốt, với độ lệch chuẩn thấp nhất. Để giảm bớt sai số trong phân tích, nhiều yếu tố cần được quan tâm và xem xét đầy đủ như: cách chuẩn bị mẫu thử, nhiễu đường nền do chất lượng của các thuốc thử, việc thực hành thí nghiệm, tính năng và việc bảo dưỡng máy móc thiết bị, các dữ liệu phân tích và cách biện giải và cuối cùng là việc thực thi thành thạo của người làm phân tích.

Chuẩn bị mẫu thử

Muốn có kết quả phân tích acid amin đúng, phải dùng các mẫu thử protein và peptid đã tinh chế. Các tạp chất như các muối, ure, chất tẩy rửa... có thể gây nhiễu, nên cần phải loại khỏi mẫu thử trước khi tiến hành phân tích. Phương pháp điều chế dẫn chất sau cột sắc ký không bị nhiễm bởi các tạp chất ở mức độ lớn như khi điều chế dẫn chất trước cột sắc ký. Nên giảm số thao tác trên mẫu thử để giảm nhiễu đường nền, tăng kết quả tìm thấy và giảm công lao động. Các cách thông thường để loại tạp chất trong mẫu thử protein bao gồm:

Tách bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo, thu protein bằng một dung môi bay hơi có chứa một lượng thích hợp thành phần hữu cơ rồi làm khô bằng ly tâm chân không;

Thâm tách loại bỏ tạp chất;

Ly tâm siêu lọc;

Kết tủa protein bằng một dung môi hữu cơ (ví dụ acetone);

Lọc qua gel.

Chất chuẩn nội

Cần dùng một chất chuẩn nội để kiểm soát những mất mát và biến đổi lý hóa học xảy ra trong quá trình phân tích acid amin. Do đó, trước khi tiến hành thủy phân phải thêm một lượng chính xác chất chuẩn nội vào dung dịch protein cần phân tích. Lượng chuẩn nội tìm thấy được sẽ là một thông số chung cho lượng tìm thấy được của các acid amin có trong protein. Tuy nhiên các acid amin tự do và các acid amin liên kết trong cấu trúc protein không giống nhau về tốc độ thủy phân hoặc phân hủy. Vì vậy việc dùng chất chuẩn nội để hiệu chỉnh sự mất mát trong quá trình thủy phân có thể cho kết quả không đáng tin cậy. Cần chú ý điều này khi biện giải kết quả phân tích. Ta còn có thể thêm chất chuẩn nội vào hỗn hợp các acid amin sau khi đã được thủy phân để hiệu chỉnh những sai lệch về kết quả phân tích gây ra do các sai lệch khi tiêm mẫu, do thay đổi độ ổn định của thuốc thử cũng như tốc độ dòng của dung môi. Chất chuẩn nội lý tưởng là một acid amin bậc nhất nhân tạo, có sẵn trên thị trường với giá rẻ. Chất này phải bền vững trong quá trình thủy phân, có hệ số đáp ứng tuyến tính với nồng độ và phải được rửa giải cho một pic có thời gian lưu duy nhất và được phân giải tốt với các pic tương ứng với các acid amin khác. Các chất chuẩn nội thường được dùng bao gồm norleucin, nitrotyrosin và acid α -aminobutyric.

Thủy phân protein

Cần thiết phải tiến hành thủy phân các mẫu thử protein và peptid trước khi phân tích các acid amin tạo thành. Để tránh sai kết quả, các đồ thủy tinh dùng trong thủy phân phải hết sức sạch. Dầu vân tay trên ống thủy phân hoặc bột tách ra từ bao tay cũng có thể làm nhiễm bẩn mẫu thử. Để rửa sạch các ống thủy tinh dùng trong thủy phân (ống thủy phân), ta đun sôi chúng 1 giờ trong dung dịch acid hydrocloric 1 M hoặc ngâm chúng trong acid nitric đậm đặc hoặc trong hỗn hợp đồng thể tích acid hydrocloric và dung dịch nitric đậm đặc. Sau đó tráng sạch bằng nước cất tinh khiết cao, tiếp đến bằng methanol dùng trong sắc ký lỏng cao áp. Cuối cùng sấy qua đêm trong tủ sấy rồi bảo quản kín cho đến khi dùng. Cũng có thể nung đồ thủy tinh dùng để thủy phân ở nhiệt độ 500 °C trong 4 giờ để tránh nhiễm bẩn. Cũng có thể sử dụng loại dụng cụ thích hợp, chỉ dùng một lần rồi bỏ.

Thủy phân bằng acid là phương pháp thông dụng nhất để thủy phân một mẫu thử protein trước khi tiến hành phân tách các acid amin tạo ra mẫu thử đó. Thủy phân bằng acid có thể cho kết quả phân tích thay đổi vì một số acid amin bị phân hủy một phần hay hoàn toàn. Cụ thể là: Tryptophan bị phân hủy, serin và threonin bị phân hủy một phần, methionin có thể bị oxy hóa còn cystein thì chuyển đổi thành cystin (tuy nhiên lượng cystin tìm thấy được thường thấp hơn thực tế vì một phần bị phân hủy hoặc bị khử trở lại thành cystein). Có thể giảm thiểu sự phân hủy do bị oxy hóa bằng cách tiến hành thủy phân trong môi trường chân không thích hợp (áp suất thấp hơn 200 μ m thủy ngân hoặc 26,7 Pa) hoặc bằng cách nạp một khí trơ (argon) vào khoảng trống phía trên của bình phản ứng. Các đường nối peptid giữa isoleucin - isoleucin, valin - valin, isoleucin - valin và valin - isoleucin chỉ có một phần được cắt đứt để giải phóng acid amin thôi. Asparagin và glutamin đều bị khử amid để thành acid aspartic và acid glutamic tương ứng. Vì tryptophan, asparagin và glutamin bị mất mát trong khi thủy phân bằng acid nên ta chỉ còn định lượng được 17 acid amin. Một số kỹ thuật thủy phân mô tả sau đây sẽ đề cập cách khắc phục các trở ngại nêu trên. Tuy nhiên một số kỹ thuật (từ số 4 đến số 11) lại có thể biến đổi một số acid amin khác. Vì vậy cần cân nhắc lợi hại khi chọn kỹ thuật thủy phân protein/peptid và phải thực nghiệm thích hợp trước khi chọn một kỹ thuật thủy phân khác kỹ thuật thủy phân bằng acid.

Thường hay dùng phương pháp phân tích acid amin theo chương trình thời gian thủy phân (tức là phân tích acid amin ở các thời điểm thủy phân là 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ) để xác định nồng độ ban đầu của các acid amin dễ bị phân hủy hoặc chậm bị phân tách khi thủy phân: Vẽ đồ thị biểu thị sự liên quan giữa nồng độ thu được của acid amin dễ bị phân hủy (thí dụ serin, threonin) với thời gian thủy phân rồi ngoại suy tới điểm gốc thời gian, ta sẽ được nồng độ ban đầu (nồng độ ở gốc thời gian) của acid amin dễ bị phân hủy đó. Áp dụng phương pháp chương trình thời gian thủy phân này cho các acid amin chậm được phân tách (ví dụ isoleucin và valin), trên đồ thị sẽ có một đoạn bằng (đoạn thẳng nằm ngang) ứng với nồng độ của acid amin cần phân tích đó. Nếu thời gian thủy phân quá dài, nồng độ của các acid amin cần phân tích sẽ bắt đầu giảm, chứng tỏ acid amin đó đã bị phân hủy do điều kiện thủy phân.

Một cách khác của phân tích acid amin theo chương trình thời gian thủy phân được chấp thuận là cho một chuẩn acid amin trải qua cùng các điều kiện như khi thủy phân mẫu thử protein/peptid. Acid amin chuẩn, ở thể tự do, có thể sẽ không có kết quả hoàn toàn tiêu biểu cho tốc độ phân hủy của các acid amin dễ bị phân hủy có trong mẫu thử protein/peptid. Điều này đặc biệt đúng đối với các liên kết peptid chậm bị phân

tách (như liên kết isoleucin - valin). Tuy nhiên cách phân tích này sẽ cho phép giải thích một vài trường hợp phân hủy acid amin trong mẫu thử.

Cách thủy phân bằng acid trong lò vi sóng cũng đã được sử dụng, cho kết quả nhanh chóng nhưng đòi hỏi thiết bị đặc biệt và cần thận trọng đặc biệt. Phải xác định được các điều kiện thủy phân trong lò vi sóng tối ưu cho mỗi mẫu thử protein/peptit riêng biệt. Thủy phân trong lò vi sóng chỉ cần thời gian ít phút, nhưng nếu chỉ thêm hoặc bớt một phút so với yêu cầu thì cũng sẽ có thể có kết quả sai lệch (hoặc do các acid amin dễ bị phân hủy sẽ bị phân hủy hoặc do mẫu thử chưa được thủy phân hoàn toàn).

Cách thủy phân hoàn toàn bằng một hỗn hợp các men protease cũng được áp dụng nhưng phức tạp, đòi hỏi phải được kiểm soát chặt chẽ và thường được áp dụng nhiều để phân tích các peptid hơn là các protein.

Khi tiến hành phân tích lần đầu một mẫu thử protein mới, cần phải làm thực nghiệm để xác định các điều kiện tối ưu về thời gian và nhiệt độ thủy phân.

Kỹ thuật thủy phân 1

Thủy phân bằng acid hydrocloric có chứa một lượng phenol là kỹ thuật thông dụng nhất để thủy phân mẫu thử protein/peptid trước khi tiến hành phân tích acid amin. Thêm phenol vào môi trường thủy phân cốt để ngăn ngừa hiện tượng halogen hóa tyrosin.

Dung dịch thủy phân: Dung dịch acid hydrocloric 6 M chứa từ 0,1 % đến 1 % phenol.

Thủy phân pha lỏng: Cho vào ống thủy phân mẫu thử protein/peptid rồi làm khô (để loại nước, tránh pha loãng dung dịch thủy phân). Cứ 500 µg mẫu thử đông khô, ta thêm 200 µl dung dịch thủy phân. Làm lạnh ống thử trong acetone đông băng khan. Hàn ống thủy phân ở chân không. Thủy phân mẫu thử trong 24 giờ ở 110 °C và trong chân không hoặc khí trơ để tránh oxy hóa. Nếu lo ngại mẫu thử chưa được thủy phân hoàn toàn, cần nghiên cứu kéo dài thêm thời gian thủy phân (thí dụ trong 48 giờ và 72 giờ).

Thủy phân pha hơi: Đây là một trong các kỹ thuật thủy phân thông dụng nhất được ưa dùng để làm vi phân tích, khi chỉ có một lượng nhỏ mẫu thử. Kỹ thuật này cũng cho phép giảm thiểu việc mẫu thử bị nhiễm bẩn bởi dung dịch thủy phân. Đặt ống thủy phân chứa mẫu thử đã làm khô trong một ống thử to hơn, ống này chứa một lượng thích hợp dung dịch thủy phân và như vậy ngăn không cho mẫu thử tiếp xúc trực tiếp với dung dịch thủy phân. Hút chân không (áp suất thấp hơn 200 µm thủy ngân hoặc 26,7 Pa), hoặc bơm một khí trơ vào phần trên của ống thử. Hàn ống lớn và thủy phân ở 110 °C trong 24 giờ. Hơi acid sẽ thủy phân mẫu thử và lượng acid ngưng tụ trong ống thủy phân chứa mẫu thử là tối thiểu. Sau khi thủy phân xong, sấy khô mẫu thử trong chân không để loại bỏ acid dư thừa.

Kỹ thuật thủy phân 2

Giảm hiện tượng oxy hóa tryptophan trong khi thủy phân bằng cách dùng acid mercaptoethansulfonic (MESA) làm acid khử.

Dung dịch thủy phân: Dung dịch MESA 2,5 M.

Thủy phân pha hơi: Làm khô 1 µg đến 100 µg mẫu thử protein/peptid trong ống thủy phân. Đặt ống thủy phân trong một ống lớn hơn, chứa khoảng 200 µl dung dịch thủy phân. Hàn ống lớn trong chân không (áp suất khoảng 50 µm thủy ngân hoặc 6,7 Pa). Thủy phân ở 170 °C đến 185 °C trong khoảng 12,5 phút. Sau khi thủy phân xong làm khô ống thủy phân ở chân không trong 15 phút để loại acid dư thừa.

Kỹ thuật thủy phân 3

Ngăn ngừa hiện tượng oxy hóa tryptophan bằng cách dùng acid thioglycolic (TGA) làm acid khử.

Dung dịch thủy phân: Dung dịch acid hydrocloric 7 M chứa 1 % phenol, 10 % acid trifluoroacetic và 20 % acid thioglycolic.

Thủy phân pha hơi: Làm khô từ 10 đến 50 µg mẫu thử protein/peptid trong một ống thủy phân. Đặt ống thủy phân trong một ống lớn hơn, chứa khoảng 200 µl dung dịch thủy phân. Hàn ống lớn trong chân không (áp suất khoảng 50 µm thủy ngân hoặc 6,7 Pa). Thủy phân mẫu thử ở 166 °C trong khoảng 15 phút đến 30 phút. Sau khi thủy phân xong, làm khô ống thủy phân trong chân không trong 5 phút để loại acid dư thừa.

Lượng tryptophan tìm thấy có thể phụ thuộc vào lượng mẫu lấy thử.

Kỹ thuật thủy phân 4

Oxy hóa cystein/cystin và methionin bằng acid performic trước khi thủy phân mẫu thử.

Dung dịch oxy hóa: Dùng acid performic mới pha bằng cách trộn đều 1 thể tích *hydrogen peroxyd* 30 % (TT) với 9 thể tích *acid formic khan* (TT), rồi để ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ.

Tiến hành: Hòa tan mẫu thử protein/peptid trong 20 µl *acid formic khan* (TT) và để ở 50 °C trong 5 phút. Sau đó thêm 100 µl dung dịch oxy hóa. Để phản ứng xảy ra trong 10 phút đến 30 phút. Cystein sẽ chuyển thành acid cysteic, còn methionin thành methionin sulfon. Ly tâm chân không để loại thuốc thử thừa, rồi thủy phân mẫu thử đã được oxy hóa theo kỹ thuật 1 hoặc 2 nói trên.

Kỹ thuật 4 này có thể làm biến đổi tyrosin khi môi trường có muối halid.

Kỹ thuật thủy phân 5

Oxy hóa cystein/cystin trong quá trình thủy phân pha lỏng bằng natri azid.

Dung dịch thủy phân: Thêm vào *dung dịch acid hydrocloric 6 M* (TT) có chứa 0,2 % phenol một lượng *natri azid* (TT) để có nồng độ 0,2 %. Phenol có trong

dung dịch thủy phân ngăn ngừa sự halogen hóa của tyrosin.

Thủy phân pha lỏng: Thủy phân mẫu thử protein/peptid ở 110 °C trong 24 giờ. Trong quá trình thủy phân, cystein/cystin trong mẫu thử chuyển thành acid cysteic bởi tác dụng của natri azid có trong dung dịch thủy phân. Kỹ thuật 5 này cho kết quả tìm thấy của tyrosin tốt hơn kỹ thuật 4 nhưng lại không định lượng được methionin. Methionin chuyển thành hỗn hợp của methionin với 2 dẫn chất oxy hóa là methionin sulfoxid và methionin sulfon.

Kỹ thuật thủy phân 6

Oxy hóa cystein/cystin bằng *dimethyl sulfoxid* (DMSO) (TT).

Dung dịch thủy phân: Thêm vào dung dịch acid hydrocloric 6 M, chứa 0,1 % đến 1 % phenol, một lượng DMSO để được dung dịch nồng độ DMSO 2 % (tt/tt).

Thủy phân pha hơi: Tiến hành thủy phân mẫu thử protein/peptid ở khoảng 110 °C trong 24 giờ. Trong quá trình thủy phân, cystein/cystin có trong mẫu thử sẽ bị DMSO có trong dung dịch thủy phân chuyển thành acid cysteic. Để hạn chế sự bất ổn định của kết quả thu được và để chỉnh lý những sai lệch do sự phân hủy từng phần, người ta khuyên nên xác định kết quả tìm thấy acid cysteic sau khi đã thủy phân oxy hóa các mẫu protein chuẩn chứa từ 1 mol đến 8 mol cystein. Các hệ số đáp ứng thu được từ các dung dịch thủy phân protein/peptid thường thấp hơn khoảng 30 % so với hệ số đáp ứng thu được từ các chuẩn acid cysteic không qua thủy phân.

Vì histidin, methionin, tyrosin và tryptophan đều bị biến đổi nên kỹ thuật 6 này không cho kết quả phân tích đầy đủ thành phần cấu tạo của protein/peptid.

Kỹ thuật thủy phân 7

Khử oxy và alkyl hóa cystein/cystin bằng phản ứng pyridylethyl hóa ở pha hơi.

Dung dịch khử: Cho vào một bình thích hợp: 83,3 µl *pyridin* (TT), 16,7 µl 4-vinylpyridin, 16,7 µl *tributyl phosphin* và 83,3 µl *nước cất* rồi trộn đều.

Tiến hành: Cho vào ống thủy phân một lượng mẫu thử protein/peptid (trong khoảng từ 1 µg đến 100 µg). Đặt ống thủy phân vào một ống lớn hơn đã có sẵn dung dịch khử. Hàn kín ống lớn ở chân không (áp suất khoảng 50 µm thủy ngân hoặc 6,7 Pa) rồi làm nóng ở 100 °C trong 5 phút. Sau đó lấy ống thủy phân ra, làm khô trong bình hút ẩm chân không trong 15 phút để loại bỏ thuốc thử dư thừa. Cuối cùng thủy phân mẫu thử đã được pyridylethyl hóa, theo một trong các kỹ thuật thủy phân mô tả ở trên. Song song, tiến hành pyridylethyl hóa trong cùng điều kiện một mẫu chuẩn protein chứa 1 mol đến 8 mol cystein để xác định giá trị tìm thấy của pyridylethyl cystein.

Chú ý: Việc kéo dài thời gian phản ứng pyridylethyl hóa sẽ gây biến đổi các nhóm α-amino và ε-amino của lysin có trong mẫu thử protein/peptid.

Kỹ thuật thủy phân 8

Khử oxy và alkyl hóa cystein/cystin bằng phản ứng pyridylethyl hóa ở pha lỏng.

Các dung dịch gốc: Pha chế và lọc 3 dung dịch trong nước sau đây:

Dung dịch gốc A: *Dung dịch Tris-hydroclorid 1 M* (pH 8,5) chứa 4 mM *dinatri edetat*.

Dung dịch gốc B: *Dung dịch guanidin hydroclorid 8 M*.

Dung dịch gốc C: *Dung dịch 2-mercaptoethanol 10 %*.

Dung dịch khử: Pha hỗn hợp gồm 1 thể tích dung dịch gốc A và 3 thể tích dung dịch gốc B để có dung dịch đệm guanidin hydroclorid 6 M trong Tris-hydroclorid 0,25 M.

Tiến hành: Hòa tan khoảng 10 µg mẫu thử protein/peptid trong 50 µl dung dịch khử, rồi thêm 2,5 µl dung dịch gốc C. Để 2 giờ ở nhiệt độ phòng, trong khí nitơ hoặc argon và ở chỗ tối. Để thực hiện phản ứng pyridylethyl hóa, thêm vào khoảng 2 µl 4-vinylpyridin và để yên 2 giờ trong tối, ở nhiệt độ phòng. Sau đó, loại tạp bằng cách tách bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo. Làm khô mẫu thử protein/peptid sau khi qua sắc ký bằng cách ly tâm chân không rồi tiến hành thủy phân bằng acid.

Kỹ thuật thủy phân 9

Khử oxy và alkyl hóa cystein/cystin bằng phản ứng carboxymethyl hóa ở pha lỏng.

Các dung dịch gốc: Pha như ở kỹ thuật thủy phân 8.

Dung dịch carboxymethyl hóa: *Dung dịch iodoacetamid 10 % trong ethanol 96 %*.

Dung dịch đệm: Dùng dung dịch khử của kỹ thuật thủy phân 8.

Tiến hành: Hòa tan mẫu thử protein/peptid trong 50 µl dung dịch đệm, thêm khoảng 2,5 µl dung dịch gốc C. Bảo quản 2 giờ trong khí nitơ hoặc argon ở nhiệt độ phòng và trong tối. Thêm một lượng dung dịch carboxymethyl hóa gấp 1,5 lần tổng lượng các thiol có trong mẫu thử theo lý thuyết. Nếu không biết hàm lượng các thiol trong mẫu thử thì cứ 20 nanomol protein dùng 5 µl *dung dịch iodoacetamid 100 mM*. Để tiếp 30 phút trong tối ở nhiệt độ phòng. Sau đó thêm lượng dư 2-mercaptoethanol để dừng phản ứng. Loại tạp và thu phần protein/peptid bằng cách phân tách trên sắc ký lỏng pha đảo. Làm khô phần protein/peptid thu được bằng ly tâm chân không trước khi thủy phân bằng acid.

Chất S-carboxyamidomethylcystein mới tạo thành được chuyển đổi thành S-carboxymethylcystein trong quá trình thủy phân.

Kỹ thuật thủy phân 10

Cystein/cystin tác dụng với acid dithiodiglycolic hoặc acid dithiodipropionic để cho một disulfid hỗn tạp. Tùy theo yêu cầu về độ phân giải của kỹ thuật phân tích acid amin được áp dụng mà chọn dùng acid dithiodiglycolic hoặc acid dithiodipropionic.

Dung dịch khử: Dung dịch acid dithiodiglycolic (hoặc acid dithiodipropionic) 1 % trong dung dịch NaOH 0,2 M.

Tiến hành: Cho vào ống thủy phân khoảng 20 µg mẫu thử protein/peptid. Thêm 5 µl dung dịch khử và 10 µl isopropanol. Ly tâm chân không để loại pha lỏng rồi thủy phân mẫu thử theo kỹ thuật thủy phân 1.

Kỹ thuật 10 này có lợi là các thành phần acid amin khác trong mẫu thử không bị ảnh hưởng của phản ứng và không cần loại tạp trước khi thủy phân.

Kỹ thuật thủy phân 11

Trong quá trình thủy phân bằng acid, asparagin và glutamin được chuyển đổi thành acid aspartic và acid glutamic tương ứng. Asparagin và acid aspartic được biểu thị bằng một đại lượng chung Asx, còn glutamin và acid glutamic bằng Glx. Trái lại, khi thủy phân bằng acid với sự có mặt của thuốc thử bis (1,1-trifluoroacetoxy)iodobenzen (BTI), asparagin và glutamin bị tác dụng và chuyển tương ứng thành acid diaminopropionic và acid diaminobutyric. Nhờ đó, ta xác định được asparagin và glutamin trong protein/peptid ngay khi có mặt của acid aspartic và acid glutamic.

Các dung dịch khử: Pha chế và lọc 3 dung dịch sau:

Dung dịch A: Dung dịch acid trifluoroacetic 10 mM.

Dung dịch B: Dung dịch chứa guanidin hydroclorid 5 M và acid trifluoroacetic 10 mM.

Dung dịch C: Dung dịch mới pha BTI 3,6 % trong dimethylformamid.

Tiến hành: Cho vào một ống thủy phân sạch khoảng 200 µg mẫu thử protein/peptid, 2 ml dung dịch A hoặc dung dịch B và 2 ml dung dịch C. Hàn ống thủy phân trong chân không. Để 4 giờ ở nhiệt độ 60 °C, trong tối. Sau đó thẩm tách mẫu thử bằng nước cất để loại bỏ thuốc thử dư thừa. Chiết mẫu thử đã thẩm tách 3 lần bằng 3 thể tích tương đương butyl acetat, rồi làm đông khô.

Cuối cùng thủy phân mẫu thử đông khô theo các kỹ thuật thủy phân đã nói ở trên.

Các acid α,β -diaminopropionic và α,γ -diaminobutyric đều không được phân giải rõ ràng với lysin có trong mẫu thử, khi phân tách bằng sắc ký trao đổi ion. Vì vậy, khi dùng sắc ký trao đổi ion để tách các acid amin, hàm lượng của asparagin và của glutamin có mặt trong mẫu thử được xác định bằng hiệu số giữa hàm lượng của acid aspartic và của acid glutamic tương ứng thu được khi thủy phân acid không có BTI và hàm lượng của acid aspartic và của acid glutamic tương ứng thu được khi thủy phân có BTI.

Hàm lượng của threonin, methionin, cystein, tyrosin và histidin có thể bị sai lệch khi thủy phân bằng acid có BTI. Vì vậy, muốn có giá trị đúng của các hàm lượng này, mẫu thử phải được thủy phân bằng acid, không có thuốc thử BTI.

Tách và phát hiện các acid amin

Có nhiều kỹ thuật để tách và phát hiện các acid amin. Lựa chọn kỹ thuật nào phụ thuộc vào yêu cầu về độ nhạy của phép định lượng. Nhìn chung, khoảng một nửa các phép phân tích acid amin dựa trên việc tách thành acid amin tự do bằng sắc ký lỏng trao đổi ion rồi tạo dẫn chất sau cột phân tách. Kỹ thuật tạo dẫn chất sau cột có thể áp dụng cho các mẫu thử có một lượng nhỏ chất đệm (như các muối và urê) và thường cần từ 5 µg đến 10 µg mẫu thử protein cho một lần phân tích.

Các kỹ thuật còn lại, bao gồm việc tạo các dẫn chất trước cột rồi tách chúng bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo. Các kỹ thuật tạo dẫn chất trước cột rất nhạy và thường chỉ cần từ 0,5 µg đến 1,0 µg mẫu thử protein/peptid cho mỗi lần phân tích, nhưng lại có thể bị ảnh hưởng bởi các muối đệm có trong mẫu thử. Mặt khác, kỹ thuật tạo dẫn chất trước cột còn có thể cho nhiều dẫn chất khác nhau của cùng một acid amin, do đó gây trở ngại cho việc biện giải kết quả phân tích. So với kỹ thuật tạo dẫn chất trước cột, thường kỹ thuật tạo dẫn chất sau cột ít bị ảnh hưởng bởi các biến thiên trong việc thực hiện phép định lượng hơn.

Có thể dùng các kỹ thuật sau đây để phân tích định lượng các acid amin.

Thiết bị và thuốc thử đều có sẵn trên thị trường. Hơn nữa, hiện có nhiều cải tiến về các mặt như pha chế thuốc thử, cách tiến hành phản ứng, thiết bị sắc ký dùng trong các kỹ thuật này, v.v.... Các thông số đặc trưng có thể thay đổi tùy thuộc vào thiết bị đã dùng và cách tiến hành phân tích. Nhiều phòng thí nghiệm còn áp dụng đồng thời nhiều kỹ thuật chứ không chỉ một, để tận dụng lợi ích của mỗi kỹ thuật đã áp dụng. Trong các kỹ thuật sau đây, tín hiệu tương tự được hiển thị trên máy ghi và diện tích các pic được tích phân để định lượng.

Kỹ thuật 1: Tạo dẫn chất sau cột với thuốc thử ninhydrin

Sắc ký trao đổi ion tạo dẫn chất sau cột với thuốc thử ninhydrin là một trong các kỹ thuật thông dụng nhất để phân tích định lượng các acid amin. Theo nguyên tắc, sắc ký trao đổi cation, dùng lithi làm đối ion trong pha động được áp dụng để phân tích các mẫu thử sinh học phức tạp; trái lại, sắc ký trao đổi cation, dùng natri làm đối ion trong pha động, nhanh hơn, được dùng với các mẫu thử đơn giản hơn, gồm hỗn hợp các acid amin đã được thủy phân từ protein/peptid ra (tiêu biểu gồm 17 acid amin khác nhau). Việc phân tích acid amin trên cột

trao đổi ion được thực hiện thông qua sự phối hợp giữa thay đổi pH và thay đổi lực ion của pha động (chương trình dung môi). Chương trình nhiệt độ cũng thường được áp dụng để tăng nhanh sự phân tách.

Các acid amin bậc nhất tác dụng với ninhydrin cho hợp chất màu tím, hấp thụ cực đại ở bước sóng 570 nm. Trái lại, các acid amin bậc 2 (các imino acid) như prolin, tác dụng với ninhydrin cho hợp chất màu vàng, hấp thụ cực đại ở 440 nm. Vì vậy ta phát hiện các dẫn chất của acid amin thu được sau cột ở các bước sóng 440 nm và 570 nm.

Đối với đa số các dẫn chất acid amin, giới hạn phát hiện được xác định là 10 picomol; đối với dẫn chất của prolin, giới hạn đó là 50 picomol. Khoảng tuyến tính là 20 picomol đến 500 picomol, với hệ số tương quan $r > 0,999$. Để có kết quả tốt, dùng một lượng mẫu thử lớn hơn 1 μg để thủy phân trước khi phân tích các acid amin trong protein/peptid là thích hợp nhất.

Kỹ thuật 2: Tạo dẫn chất sau cột với thuốc thử OPA

Thuốc thử ortho-phthalaldehyd (OPA) tác dụng với các amin bậc nhất, khi có mặt một hợp chất thiol, cho các hợp chất isoindol phát huỳnh quang. OPA không tác dụng với các amin bậc 2 (các imino acid như prolin) để có hợp chất phát huỳnh quang; tuy nhiên, nếu oxy hóa chúng bằng natri hypoclorid hoặc cloramin T thì phản ứng với OPA sẽ xảy ra. Do đó, để phân tích các acid amin trong mẫu thử protein/peptid bằng kỹ thuật này, ta phải tách các acid amin tự do bằng sắc ký trao đổi cation mạnh rồi oxy hóa sau cột bằng natri hypoclorid hoặc cloramin T và tiếp đó tạo dẫn chất phát huỳnh quang bằng thuốc thử OPA với sự có mặt của một hợp chất thiol như N-acetyl-L-cystein hoặc 2-mercaptoethanol. Các acid amin bậc nhất không bị ảnh hưởng bởi sự oxy hóa nói trên.

Việc tách các acid amin bằng sắc ký lỏng trao đổi ion được thực hiện nhờ sự phối hợp giữa việc thay đổi pH và thay đổi lực ion của pha động (chương trình dung môi). Sau khi được phân tách, các dẫn chất phát huỳnh quang sẽ được phát hiện với bước sóng kích thích ở 348 nm và bước sóng phát quang ở 450 nm.

Giới hạn phát hiện được xác định ở mức một vài chục picomol, đối với đa số các dẫn chất OPA của acid amin. Khoảng tuyến tính là từ vài picomol đến vài chục nanomol. Để có kết quả phân tích tốt, lấy mẫu thử protein/peptid lớn hơn 500 ng để thủy phân.

Kỹ thuật 3: Tạo dẫn chất trước cột với thuốc thử PITC

Thuốc thử phenylisothiocyanat (PITC) tác dụng với các acid amin để thành dẫn chất phenylthiocarbamyl (PTC) hấp thụ mạnh bức xạ ở bước sóng 254 nm. Tách các dẫn chất PTC của acid amin, đã được tạo trước cột, bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo, dùng cột octadecylsilyl (ODS) và phát hiện ở bước sóng 254 nm.

Việc phân tách các dẫn chất acid amin bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo được thực hiện nhờ việc phối hợp

giữa các thay đổi về nồng độ acetonitril và về lực ion trong pha động.

Đối với đa số các dẫn chất PTC-acid amin, giới hạn phát hiện được xác định là 1 picomol. Khoảng tuyến tính là 20 picomol đến 500 picomol với hệ số tương quan $r > 0,999$. Để có kết quả phân tích tốt, lấy lượng mẫu thử lớn hơn 500 ng để thủy phân.

Chú ý: Sau khi đã loại bỏ trong chân không thuốc thử dư, các dẫn chất PTC-acid amin có thể bảo quản khô và đông băng trong vài tuần lễ mà không có sự phân hủy nào đáng kể. Nếu dung dịch để tiêm vào máy sắc ký được bảo quản lạnh, sau 3 ngày cũng chưa thấy suy giảm đáp ứng sắc ký nào đáng kể xảy ra.

Kỹ thuật 4: Tạo dẫn chất trước cột với thuốc thử AQC

Thuốc thử 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamat (AQC) tác dụng với các acid amin tạo thành các dẫn chất urê bất đối xứng, ổn định, phát huỳnh quang (các dẫn chất AQC-acid amin) và được phân tách bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo. Do đó, ta tạo dẫn chất AQC trước cột rồi tách chúng bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo, dùng cột ODS và phát hiện bằng detector huỳnh quang, ở bước sóng kích thích 250 nm và bước sóng phát quang ở 395 nm. Việc phân tách được thực hiện nhờ việc phối hợp sự thay đổi nồng độ acetonitril và thay đổi lực ion của pha động (chương trình dung môi). Tiêm trực tiếp hỗn hợp mẫu thử và thuốc thử vào máy sắc ký. Không có nhiễu đáng kể gây ra bởi 6-aminoquinolin, sản phẩm thứ cấp chủ yếu phát huỳnh quang của thuốc thử. Thuốc thử dư được thủy phân nhanh chóng (nửa đời < 15 giây) thành các chất 6-aminoquinolin, N-hydroxysuccinimid và carbon dioxyd, và sau 1 phút, không còn phản ứng tạo dẫn chất xảy ra.

Diện tích pic của các dẫn chất AQC-acid amin không thay đổi chủ yếu trong thời gian 1 tuần, ở nhiệt độ phòng. Nhờ tính ổn định này, có thể tiến hành phân tích qua đêm trên các máy tự động được.

Giới hạn phát hiện được xác định ở vào khoảng từ 40 femtomol đến 320 femtomol, tính cho mỗi acid amin, trừ cystein. Giới hạn phát hiện của cystein xấp xỉ bằng 800 femtomol. Khoảng tuyến tính là từ 2,5 micromol đến 200 micromol, với hệ số tương quan $r > 0,999$. Có thể thu được kết quả phân tích tốt với lượng mẫu protein/peptid lấy thử thấp tới 30 ng.

Kỹ thuật 5: Tạo dẫn chất trước cột với thuốc thử OPA

Thuốc thử orthophthalaldehyd (OPA), khi có mặt một hợp chất thiol (có thể dùng 2-mercaptoethanol hoặc acid 3-mercaptopropionic), sẽ tác dụng với các amin bậc nhất để cho một hợp chất isoindol phát huỳnh quang mạnh. Bản thân thuốc thử OPA không phát huỳnh quang, nên không gây trở ngại. Mặt khác, vì OPA dễ tan và ổn định trong nước đồng thời cho phản ứng nhanh nên có thể tạo dẫn chất và phân tích mẫu thử một cách tự động, dùng thiết bị tự nạp mẫu thử để trộn lẫn mẫu thử với thuốc thử. Tuy nhiên, OPA

không cho phản ứng với các amin bậc 2, nên kỹ thuật 5 này không áp dụng được để phân tích các acid amin có hóa chức amin bậc 2 như prolin. Để khắc phục, phải phối hợp kỹ thuật 5 này với kỹ thuật 7 hoặc 8 mô tả sau đây.

Vì dẫn chất OPA-acid amin không bền vững nên sau khi tạo dẫn chất trước cột, phải tiến hành phân tích ngay trên sắc ký lỏng cao áp pha đảo và phát hiện kết quả bằng detector huỳnh quang ở bước sóng kích thích 348 nm và bước sóng phát quang 450 nm.

Giới hạn phát hiện bằng huỳnh quang thấp tới 50 femtomol đã được báo cáo. Tuy nhiên, giới hạn phát hiện thực tế của phép phân tích là 1 picomol.

Kỹ thuật 6: Tạo dẫn chất trước cột bằng thuốc thử DABS-Cl

Thuốc thử dimethylamino-azobenzenesulfonyl clorid (DABS-Cl) là một thuốc thử cho màu để phát hiện acid amin. Các dẫn chất tạo thành (DABS-acid amin) rất bền vững và hấp thụ cực đại ở bước sóng 436 nm. Tạo các dẫn chất này trước cột rồi tách chúng bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo, dùng cột ODS và phát hiện kết quả ở bước sóng 436 nm.

Kỹ thuật này có thể phân tích cả các acid amin bậc nhất và acid amin bậc hai (như prolin) với cùng độ nhạy như nhau. Còn có thể định lượng đồng thời thành phần tryptophan có trong mẫu thử protein/peptid sau khi đã thủy phân mẫu thử bằng các acid sulfonic như: acid mercaptoethansulfonic, acid p-toluensulfonic hoặc acid methansulfonic như đã mô tả ở kỹ thuật thủy phân 2 ở trên. Các thành phần khác dễ hỏng vì acid như asparagin và glutamin cũng được phân tích sau khi đã làm phản ứng chuyển đổi thành acid diaminopropionic và acid diaminobutyric tương ứng bằng phản ứng với thuốc thử BTI đã mô tả ở kỹ thuật thủy phân 11 ở trên.

Trong kỹ thuật này, không dùng norleucin nhân tạo để làm chuẩn nội, vì nó được rửa giải ra tại vùng đáy đặc các pic của các acid amin bậc nhất trên sắc đồ. Có thể dùng nitrotyrosin làm chuẩn nội vì nó được rửa giải ra tại vùng có ít pic trên sắc đồ.

Giới hạn phát hiện các DABS-acid amin ở khoảng 1 picomol. Lượng nhỏ từ 2 đến 5 picomol của một DABS-acid amin nào đó cũng có thể cho kết quả định lượng đáng tin cậy, và chỉ cần dùng 10 ng đến 30 ng protein thủy phân đã được dẫn chất hóa cho mỗi lần phân tích.

Kỹ thuật 7: Tạo dẫn chất trước cột với thuốc thử FMOC-Cl

Thuốc thử 9-fluorenylmethyl cloroformat (FMOC-Cl) tác dụng với acid amin bậc nhất và acid amin bậc hai để tạo thành các dẫn chất FMOC-acid amin phát huỳnh quang mạnh.

Phản ứng xảy ra nhẹ nhàng trong môi trường nước, trong 30 giây. Các dẫn chất được tạo thành đều bền

vững, chỉ riêng dẫn chất của histidin là có biểu hiện phân hủy nào đó. Mặc dù bản thân thuốc thử và các sản phẩm phụ của phản ứng đều phát huỳnh quang nhưng ta có thể loại chúng mà không làm mất mát các dẫn chất FMOC-acid amin.

Sau khi tạo dẫn chất trước cột, tiến hành tách các FMOC-acid amin bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo, dùng cột ODS, với chương trình gradient dung môi, biến thiên tuyến tính từ hỗn hợp gồm 10 thể tích acetonitril, 40 thể tích methanol và 50 thể tích đệm acid acetic đến hỗn hợp gồm 50 thể tích acetonitril, 50 thể tích đệm acid acetic. Phát hiện kết quả bằng detector huỳnh quang ở bước sóng kích thích 260 nm và bước sóng phát quang 313 nm. Có thể phân tích được 20 dẫn chất acid amin trong vòng 20 phút.

Giới hạn phát hiện vào cỡ femtomol. Đa số các acid amin có khoảng tuyến tính từ 0,1 micromol đến 50 micromol.

Kỹ thuật 8: Tạo dẫn chất trước cột bằng thuốc thử NBD-F

Thuốc thử 7-fluoro-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol (NBD-F) tác dụng với cả acid amin bậc nhất và acid amin bậc 2, ở nhiệt độ 60 °C, trong 5 phút, để cho các dẫn chất NBD-acid amin phát huỳnh quang mạnh. Sau khi tạo dẫn chất trước cột, tách chúng bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo, dùng cột ODS và chương trình gradient dung môi gồm acetonitril và hỗn hợp đệm trong nước. 17 dẫn chất acid amin được tách ra trong vòng 35 phút. Có thể dùng acid ϵ -aminocaproic làm chất chuẩn nội, vì được rửa giải ở vùng ít pic trên sắc đồ. Phát hiện kết quả bằng detector huỳnh quang, ở bước sóng kích thích 480 nm và bước sóng phát quang ở 530 nm.

Kỹ thuật này có độ nhạy gần tương tự như độ nhạy của kỹ thuật tạo dẫn chất trước cột với thuốc thử OPA (kỹ thuật 5) đối với các acid amin, trừ prolin không phân tích được bằng kỹ thuật 5 vì không phản ứng với thuốc thử OPA. Như vậy, kỹ thuật 8 này ích lợi hơn kỹ thuật 5.

Giới hạn phát hiện mỗi acid amin ở khoảng 10 femtomol và lượng mẫu thử protein/peptid thủy phân cần lấy để tạo dẫn chất trước cột ở khoảng 1,5 mg.

Tính kết quả

Khi xác định hàm lượng các acid amin trong một mẫu thử protein/peptid, cần nhớ rằng, trong quá trình thủy phân bằng acid, tryptophan và cystein bị phá hủy, serin và threonin bị phá hủy một phần, valin và isoleucin không được tách hoàn toàn, methionin có thể bị oxy hóa và một vài acid amin như glycine và serin thường bị nhiễu. Tiến hành phân tích ở môi trường chân không thích hợp (áp suất thấp hơn 200 μ m thủy ngân hoặc 26,7 Pa) hoặc ở môi trường có khí trơ (như argon) khi thủy phân pha hơi, có thể giảm mức phân hủy do bị oxy hóa. Các kết quả định lượng cystein, tryptophan, threonin, isoleucin, valin, methionin,

glycin và serin trong một mẫu thử protein/peptid đã thủy phân có thể thay đổi và do đó thường cần tiến hành xem xét đánh giá bổ sung.

Tính tỷ lệ phần trăm hàm lượng của một loại acid amin có trong mẫu thử protein/peptid

Đó là số lượng nanomol của một loại acid amin có trong 100 nanomol của toàn thể các acid amin có trong mẫu thử protein/peptid. Tỷ lệ này có ích trong việc đánh giá các dữ liệu thu được khi phân tích các acid amin trong một protein mà ta chưa biết khối lượng phân tử. Nó giúp củng cố kết quả định tính một protein/peptid chưa biết bằng cách so sánh tỷ lệ phần trăm hàm lượng mỗi loại acid amin trong mẫu thử chưa biết với tỷ lệ phần trăm hàm lượng của mỗi loại acid amin tương ứng có trong các protein/peptid đã biết.

Tính tỷ lệ phần trăm hàm lượng của một acid amin trong protein/peptid theo công thức sau:

$$\frac{100r_i}{r_t}$$

Trong đó:

r_i là đáp ứng (hàm lượng) tính theo nanomol của acid amin i ;

r_t là đáp ứng (hàm lượng) tính theo nanomol của tất cả các acid amin thu được trên sắc đồ.

Mẫu thử protein/peptid chưa biết

Xác định khối lượng Q_i (tính theo microgam) của mỗi loại acid amin có mặt trong mẫu protein/peptid chưa biết

Tính bằng công thức sau:

$$Q_i = \frac{m_i \times M_i}{1000}$$

Trong đó:

Q_i là khối lượng (tính theo microgam) của acid amin i có trong mẫu thử;

m_i là hàm lượng (tính theo nanomol) của tất cả các acid amin i tìm thấy trên sắc đồ;

M_i là phân tử lượng trung bình (tính theo gam) của acid amin i , đã được hiệu chỉnh về khối lượng H_2O bị loại khi tạo thành liên kết peptid.

Ước lượng tổng khối lượng của mẫu thử protein/peptid

Tổng khối lượng ΣQ_i của các loại acid amin tìm thấy cho phép ta ước lượng khối lượng của protein/peptid đem thử sau khi đã hiệu chỉnh về khối lượng mất mát do có sự phân hủy từng phần hoặc toàn phần của một số acid amin dễ bị phân hủy trong quá trình thủy phân.

Xác định số lượng của mỗi loại acid amin tham gia cấu tạo mẫu thử protein/peptid chưa biết. Nếu xác định được phân tử lượng M_p của protein/peptid đem thử (thí dụ bằng khối phổ), ta tính số lượng của mỗi loại acid amin i theo công thức sau:

$$\frac{m_i}{1000Q_p} = \frac{m_i \times M_p}{1000Q_p M_p}$$

Trong đó:

m_i là hàm lượng tính theo nanomol của acid amin i tìm thấy trong mẫu thử;

Q_p là khối lượng, tính theo microgam, của protein đem thử;

M_p là phân tử lượng của protein đem thử (tính theo gam).

Mẫu thử protein/peptid đã biết phân tử lượng và thành phần cấu tạo

Khi phân tích acid amin, một số acid amin cho kết quả tìm thấy tốt, trái lại, một số cho kết quả tìm thấy không sử dụng được vì hoặc bị phân hủy một phần hay toàn phần (ví dụ: tryptophan, cystein, threonin, serin, methionin), hoặc liên kết peptid không được tách hoàn toàn (như liên kết của isoleucin, của valin), hoặc bị nhiễu bởi một số acid amin tự do (như bởi glycin và serin). Các acid amin cho kết quả tìm thấy tốt điển hình là aspartat-asparagin, glutamat-glutamin, alanin, leucin, phenylalanin, lysin và arginin. Danh sách này có thể thay đổi tùy thuộc vào hệ thống phân tích đã dùng. Các acid amin cho kết quả tìm thấy tốt đại diện cho protein, do đó ta lợi dụng chúng để xác định hàm lượng protein và số lượng của mỗi loại acid amin (còn gọi là thành phần của acid amin) có trong mẫu thử.

Xác định hàm lượng protein trong mẫu thử

Chia hàm lượng (tính theo nanomol) của mỗi loại acid amin có giá trị tìm thấy tốt cho số lượng dự đoán của acid amin đó trong protein để có hàm lượng protein tính theo loại acid amin đó. Tính giá trị trung bình của tất cả các hàm lượng protein tính được theo từng loại acid amin có giá trị tìm thấy tốt của mẫu thử. Các hàm lượng protein tính theo từng loại acid amin riêng rẽ phải được phân bố đồng đều xung quanh giá trị trung bình của hàm lượng protein mới tính được ở trên. Phải loại bỏ các giá trị hàm lượng protein riêng rẽ của từng acid amin quá sai lệch với giá trị trung bình đã tính được. Thường các giá trị sai lệch quá 5 % phải loại bỏ. Khi đó, phải tính lại giá trị trung bình của hàm lượng protein mới, dựa trên các giá trị còn lại (không bị loại bỏ) của hàm lượng protein riêng rẽ tính theo từng loại acid amin còn lại.

Xác định số lượng của từng loại acid amin trong mẫu thử

Chia hàm lượng của mỗi loại acid amin cho giá trị trung bình của hàm lượng protein đã tính ở trên, ta được số lượng của loại acid amin đó (tức thành phần acid amin) trong mẫu thử.

Tính sai số tương đối (theo tỷ lệ phần trăm) về thành phần trong mẫu thử

Áp dụng công thức sau để tính sai số tương đối về thành phần đối với một loại acid amin i:

$$\frac{100m_i}{m_{is}}$$

Trong đó:

m_i là hàm lượng, tính theo nanomol, xác định bằng thực nghiệm, của loại acid amin i có trong mẫu thử;

m_{is} là hàm lượng (tính theo nanomol) đã biết của loại acid amin i có trong mẫu thử.

Giá trị sai số tương đối trung bình về thành phần của mẫu thử là giá trị trung bình của tất cả các sai số tương đối về thành phần tính theo từng loại acid amin riêng rẽ, trừ tryptophan và cystein. Giá trị sai số tương đối trung bình về thành phần của một mẫu thử cung cấp thông tin quan trọng về độ ổn định của phép phân tích theo thời gian. Sự phù hợp giữa giá trị thành phần acid amin trong mẫu thử, tìm thấy bằng thực nghiệm với giá trị thành phần acid amin đã biết trước của protein đem thử có thể giúp cho việc củng cố kết quả định tính và xác định độ tinh khiết của protein trong mẫu thử.

10.12 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG ETHANOL

Sử dụng phương pháp 1 hoặc phương pháp 2 trừ khi có những chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

Phương pháp 1

Tiến hành phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2) sử dụng các dung dịch sau:

Dung dịch 1: Chứa 5 % (tt/tt) ethanol (TT) và 5 % (tt/tt) propan 1-ol (TT) (chuẩn nội).

Dung dịch 2: Hòa loãng một thể tích chế phẩm thử bằng nước để có một dung dịch chứa ethanol 4,0 % đến 6,0 % (tt/tt).

Dung dịch 3: Chuẩn bị như dung dịch 2 nhưng thêm vừa đủ chất chuẩn nội để tạo ra nồng độ cuối cùng của chuẩn nội trong dung dịch này là 5,0 % (tt/tt).

Quá trình sắc ký có thể thực hiện bằng cách dùng cột (1,5 m × 4 mm) đã nhồi hạt xốp polymer (100 mesh đến 120 mesh) (Porapak Q hoặc Chromosorb 101 đều thích hợp) với nhiệt độ lò cột đặt ở 150 °C, nhiệt độ buồng tiêm và detector ở 170 °C.

Tính hàm lượng phần trăm ethanol căn cứ vào các diện tích pic ethanol trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch 1 và dung dịch 3.

Phương pháp 2

Với những chế phẩm thử mà trong đó theo quy định của chuyên luận riêng đã sử dụng cồn công nghiệp, xác định hàm lượng ethanol giống như phương pháp 1 nhưng chuẩn bị dung dịch 2 bằng cách hòa loãng một thể tích chế phẩm thử với nước để tạo một dung dịch

có nồng độ tổng cộng của methanol và ethanol từ 4,0 % đến 6,0 % (tt/tt).

Xác định hàm lượng methanol bằng cách thực hiện quá trình sắc ký như đã mô tả ở phương pháp 1 nhưng chuẩn bị các dung dịch như sau:

Dung dịch 1: Chứa 0,25 % (tt/tt) methanol (T) và 0,25 % (tt/tt) propan 1-ol (TT).

Dung dịch 2: Hòa loãng một thể tích chế phẩm thử bằng nước để có một dung dịch chứa methanol từ 0,2 % đến 0,3 % (tt/tt).

Dung dịch 3: Chuẩn bị như dung dịch 2 nhưng thêm vừa đủ chất chuẩn nội để có nồng độ cuối cùng của chuẩn nội trong dung dịch này là 0,25 %.

Tổng lượng ethanol và methanol phải ở trong giới hạn quy định của chuyên luận riêng và tỷ số giữa lượng methanol và lượng ethanol tìm được phải tương ứng với tỷ lệ này của cồn công nghiệp đã sử dụng.

Phương pháp 3

Phương pháp này chỉ dùng để khảo sát những chế phẩm dạng lỏng, chắc chắn chứa ethanol đồng thời với các chất tan khác, nhưng các chất này phải được tách khỏi ethanol khi cất.

Khi cất nếu trong mẫu thử, ngoài ethanol và nước, còn có lẫn các chất bay hơi khác thì các hướng dẫn thích hợp sẽ được quy định trong chuyên luận riêng.

Hàm lượng ethanol chứa trong một chất lỏng được biểu thị bằng số thể tích ethanol trong 100 thể tích chất lỏng ấy ở 20 °C ± 0,1 °C và được hiểu là phần trăm ethanol tính theo thể tích/thể tích.

Hàm lượng cũng có thể được biểu thị bằng gam ethanol cho 100 g chất lỏng và được hiểu là phần trăm ethanol tính theo khối lượng/khối lượng.

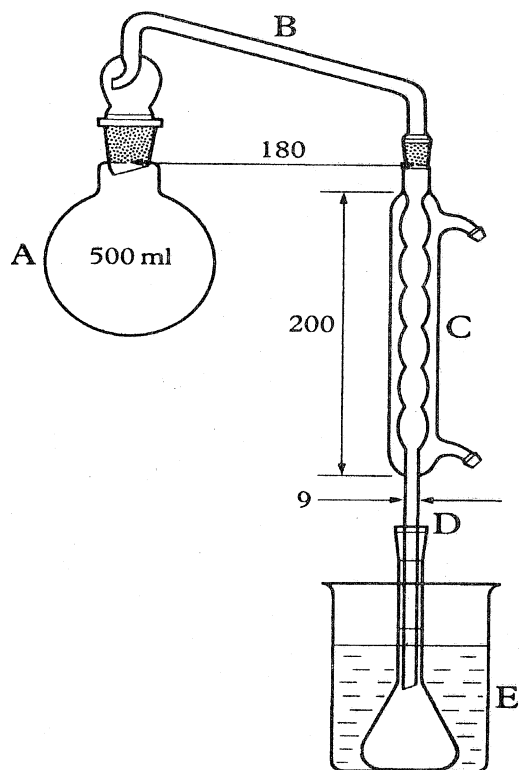
Liên quan giữa tỷ trọng ở 20 °C ± 0,1 °C, tỷ trọng tương đối (đã hiệu chỉnh ở chân không) và hàm lượng ethanol của hỗn hợp nước và ethanol được ghi trong Bảng của tổ chức Quốc tế về Đo lường hợp pháp (1972) * Khuyến cáo Quốc tế số 22**.

[*International Organisation for Legal Metrology (1972).

** International Recommendation (No 22)].

Thiết bị

Thiết bị (Hình 10.12) bao gồm một bình cầu thủy tinh đáy tròn (A) gắn với một đầu cất có bộ phận bẫy hơi (B), bộ phận này được nối với một ống sinh hàn (C) đặt thẳng đứng. Tiếp theo là một ống dẫn gắn vào phần thấp của ống sinh hàn để dẫn dịch cất vào bình hứng (D). Bình hứng có vạch định mức dung tích 100 ml hoặc 250 ml. Trong suốt quá trình cất, bình hứng này được nhúng trong cốc (E) chứa hỗn hợp đá và nước đá. Ngoài ra còn có thêm một đĩa có khoét thủng một lỗ tròn đường kính khoảng 6 cm đặt dưới bình cất để bảo hiểm.



Hình 10.12. Dụng cụ để xác định hàm lượng ethanol
(Kích thước tính bằng mm)

Xác định bằng lọ đo tỷ trọng (Picnomet)

Đong chính xác 25 ml chế phẩm ở $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ chuyển vào bình cất. Pha loãng với 100 ml đến 150 ml nước cất và thêm vài hạt đá bọt. Lắp hệ thống chung cất. Chung cất và hứng không dưới 90 ml dịch cất vào bình định mức 100 ml. Điều chỉnh nhiệt độ dịch cất tới $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$, pha loãng đến 100 ml bằng nước cất ở $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Xác định tỷ trọng tương đối ở $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ bằng lọ đo tỷ trọng (Phụ lục 6.5).

Hàm lượng ethanol tính bằng phần trăm theo thể tích bằng 4 lần trị số chỉ ra trong cột 3 ở Bảng 10.12. (Liên quan giữa tỷ trọng, tỷ trọng tương đối và hàm lượng ethanol trong dung dịch). Biểu thị kết quả với một chữ số ở phần thập phân.

Xác định bằng tỷ trọng kế (Phụ lục 6.5)

Đong chính xác 50 ml chế phẩm ở $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ chuyển vào bình cất. Pha loãng với 200 ml đến 250 ml nước cất và thêm vài hạt đá bọt. Lắp hệ thống chung cất. Chung cất và hứng không dưới 180 ml dịch cất vào bình định mức 250 ml. Điều chỉnh nhiệt độ dịch cất tới $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$; pha loãng đến 250 ml bằng nước cất ở $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Chuyển dịch cất vào một ống đong hình trụ có đường kính lớn hơn đường kính bầu của tỷ trọng kế ít nhất 6 mm. Nếu thể tích dịch cất không đủ, tăng lượng mẫu

gấp đôi và pha loãng dịch cất đến 500 ml bằng nước cất ở $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Hàm lượng ethanol tính bằng phần trăm theo thể tích bằng 5 lần trị số chỉ ra trong cột 3 ở Bảng 10.12 (Liên quan giữa tỷ trọng, tỷ trọng tương đối và hàm lượng ethanol trong dung dịch). Biểu thị kết quả ở dạng có một chữ số ở phần thập phân.

Bảng 10.12- Liên quan giữa tỷ trọng, tỷ trọng tương đối và hàm lượng ethanol

ρ_{20} (kg.m ⁻³)	Tỷ trọng tương đối của dịch cắt đo trong không khí ở 20 °C (d_{20}^{20})	Hàm lượng ethanol tính theo % (tt/tt) ở 20 °C	ρ_{20} (kg.m ⁻³)	Tỷ trọng tương đối của dịch cắt đo trong không khí ở 20 °C (d_{20}^{20})	Hàm lượng ethanol tính theo % (tt/tt) ở 20 °C
1	2	3	1	2	3
968,0	0,9697	25,09	983,5	0,9853	11,02
968,5	0,9702	24,64	984,0	0,9858	10,60
969,0	0,9707	24,19	984,5	0,9863	10,18
969,5	0,9712	23,74	985,0	0,9868	9,76
970,0	0,9717	23,29	985,5	0,9873	9,35
970,5	0,9722	22,83	986,0	0,9878	8,94
971,0	0,9727	22,37	986,5	0,9883	8,53
971,5	0,9733	21,91	987,0	0,9888	8,13
972,0	0,9738	21,45	987,5	0,9893	7,73
972,5	0,9743	20,98	988,0	0,9898	7,34
973,0	0,9748	20,52	988,5	0,9903	6,95
973,5	0,9753	20,05	989,0	0,9908	6,56
974,0	0,9758	19,59	989,5	0,9913	6,17
974,5	0,9763	19,12	990,0	0,9918	5,79
975,0	0,9768	18,66	990,5	0,9923	5,42
975,5	0,9773	18,19	991,0	0,9928	5,04
976,0	0,9778	17,73	991,5	0,9933	4,67
976,5	0,9783	17,25	992,0	0,9938	4,30
977,0	0,9788	16,80	992,5	0,9943	3,94
977,5	0,9793	16,34	993,0	0,9948	3,58
978,0	0,9798	15,88	993,5	0,9953	3,22
978,5	0,9803	15,43	994,0	0,9958	2,86
979,0	0,9808	14,97	994,5	0,9963	2,51
979,5	0,9813	14,52	995,0	0,9968	2,16
980,0	0,9818	14,07	995,5	0,9973	1,82
980,5	0,9823	13,63	996,0	0,9978	1,47
981,0	0,9828	13,18	996,5	0,9983	1,13
981,5	0,9833	12,74	997,0	0,9988	0,80
982,0	0,9838	12,31	997,5	0,9993	0,46
982,5	0,9843	11,87	998,0	0,9998	0,13
983,0	0,9848	11,44			

10.13 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG METHANOL VÀ PROPAN-2-OL

Phương pháp

Tiến hành phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2), sử dụng các dung dịch sau:

Dung dịch chuẩn nội: Chuẩn bị một dung dịch chứa *propan-1-ol* (TT) 2,5 %.

Dung dịch thử: Thêm 2,0 ml dung dịch chuẩn nội vào bình định mức dung tích 50 ml có chứa dịch cắt mẫu thử (dịch cắt thu được từ phương pháp 3, chuyên luận

xác định hàm lượng ethanol, Phụ lục 10.12), điều chỉnh hàm lượng ethanol tới 10 % (tt/tt) bằng cách pha loãng với nước hoặc với *ethanol* 90 % (TT) vừa đủ để đạt tới 50 ml dung dịch thử, tùy theo hàm lượng ethanol trong dịch cắt cao hay thấp hơn 10,0 % (tt/tt).
Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị 50 ml dung dịch chứa 2,0 ml dung dịch chuẩn nội, 10 % (tt/tt) *ethanol* (TT), 0,05 % (tt/tt) *propan-2-ol* (TT) và một lượng *methanol khan* (TT) vừa đủ để có nồng độ tổng cộng của *methanol* trong dung dịch này là 0,05 % (tt/tt) kể cả lượng *methanol* chứa trong *ethanol* (TT).

Quá trình sắc ký

Có thể thực hiện bằng cách sử dụng cột thủy tinh đã nhồi hạt xốp copolymer ethylvinylbenzen divinylbenzen (125 μ m đến 150 μ m) với nhiệt độ cột đặt và duy trì ở 130 °C, buồng tiêm ở 200 °C, detector 220 °C. Tiêm 1 μ l mỗi dung dịch trên. Từ các sắc ký đồ thu được, tính hàm lượng methanol và propan-2-ol có trong sản phẩm gốc.

Độ nhạy của phương pháp

Với phương pháp này có thể phát hiện được hàm lượng methanol và propan-2-ol thấp hơn 0,025 % (tt/tt).

10.14 XÁC ĐỊNH DUNG MÔI TỒN DƯ

Quy trình mô tả trong phụ lục này được áp dụng để xác định dung môi tồn dư trong các trường hợp:

1. Định tính dung môi nhóm 1 và dung môi nhóm 2 tồn dư trong dược chất, tá dược, hay dược phẩm;
2. Thử giới hạn dung môi nhóm 1 và dung môi nhóm 2 khi chúng tồn tại trong dược chất, tá dược, hay dược phẩm;
3. Định lượng dung môi nhóm 2 khi lượng tồn dư lớn hơn 1000 phần triệu (0,1 %) hoặc định lượng dung môi nhóm 3 tồn dư khi có yêu cầu.

Các dung môi tồn dư nhóm 1, nhóm 2, nhóm 3 được liệt kê tại các bảng trong Phụ lục 10.14.1 Quy định đối với tạp chất là dung môi tồn dư.

Chuyên luận này giới thiệu 3 cách pha mẫu thử và các điều kiện kỹ thuật tiêm pha hơi các mẫu thử hóa hơi lên hệ thống sắc ký khí. Sử dụng hai hệ sắc ký, hệ sắc ký A thường được chọn trước, còn hệ sắc ký B thường được dùng để củng cố kết quả phát hiện. Việc chọn cách pha mẫu thử tùy thuộc vào độ tan của mẫu thử. Trong một số ít trường hợp cách pha mẫu tùy thuộc dung môi tồn dư cần kiểm tra.

Các dung môi tồn dư sau đây không dễ dàng phát hiện được bằng các điều kiện tiêm pha hơi ghi trong chuyên luận này: formamid, 2-ethoxyethanol, 2-methoxyethanol, ethylen glycol, N-methylpyrrolidon và sulfolan. Phải áp dụng các qui trình khác thích hợp để kiểm tra sự tồn dư của các dung môi trên.

Khi dùng qui trình của chuyên luận này để định lượng các dung môi tồn dư, phải tiến hành thẩm định qui trình.

Tiến hành

Thực nghiệm bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2) với kỹ thuật tiêm pha hơi tĩnh (static head-space injection).

Pha mẫu thử

Cách 1: Dùng để kiểm tra dung môi tồn dư trong các chất tan trong nước.

Dung dịch mẫu thử (1): Hòa tan 0,200 g mẫu thử trong nước, pha loãng với nước tới 20,0 ml.

Cách 2: Dùng để kiểm tra dung môi tồn dư trong các chất không tan trong nước.

Dung dịch mẫu thử (2): Hòa tan 0,200 g mẫu thử trong N,N-dimethylformamid (DMF) (TT), pha loãng tới 20,0 ml với cùng dung môi.

Cách 3: Dùng để kiểm tra N,N-dimethylacetamid và/hoặc N,N-dimethylformamid khi biết rõ hoặc nghi ngờ có một hoặc cả hai dung môi này tồn dư trong mẫu thử.

Dung dịch mẫu thử (3): Hòa tan 0,200 g mẫu thử trong 1,3-dimethyl-2-imidazolidinon (DMI) và pha loãng đến 20,0 ml với cùng dung môi.

Khi không có cách pha mẫu nào nêu trên phù hợp với mẫu thử, thì cách pha mẫu thử và điều kiện tiêm pha hơi tĩnh áp dụng phải được chứng minh là phù hợp.

Dung dịch dung môi (a): Hòa tan 1,0 ml dung dịch dung môi tồn dư nhóm 1 chuẩn với nước thành 100 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này với nước thành 10,0 ml.

Dung dịch dung môi (b): Hòa tan một lượng thích hợp dung môi tồn dư nhóm 2 trong dimethyl sulfoxid (TT). Pha loãng với nước thành 100,0 ml. Tiếp tục pha loãng để thu được dung dịch có nồng độ bằng 1/20 giới hạn quy định tại Bảng 10.14.1-2 trong Phụ lục 10.14.1 Quy định đối với tạp chất là dung môi tồn dư.

Dung dịch dung môi (c): Hòa tan 1,00 g dung môi hoặc các dung môi có trong mẫu thử với dimethyl sulfoxid (TT) hoặc nước (nếu thích hợp), và pha loãng với nước thành 100,0 ml. Tiếp tục pha loãng để thu được dung dịch có nồng độ bằng 1/20 giới hạn quy định tại Bảng 10.14.1-1 hoặc Bảng 10.14.1-2. trong Phụ lục 10.14.1 Qui định đối với tạp chất là dung môi tồn dư.

Dung dịch mẫu trắng: Chuẩn bị như cách pha dung dịch dung môi (c) nhưng không thêm dung môi cần xác định (để kiểm tra sự vắng mặt của các pic nhiễu).

Dung dịch thử: Lấy 5,0 ml dung dịch mẫu thử và 1,0 ml dung dịch mẫu trắng cho vào một lọ đựng mẫu tiêm.

Dung dịch đối chiếu (a) (nhóm 1): Lấy 1,0 ml dung dịch dung môi (a) và 5,0 ml chất pha loãng thích hợp vào một lọ đựng mẫu tiêm.

Dung dịch đối chiếu (a₁) (nhóm 1): Lấy 1,0 ml dung dịch dung môi (a) và 5,0 ml dung dịch mẫu thử vào một lọ đựng mẫu tiêm.

Dung dịch đối chiếu (b) (nhóm 2): Lấy 1,0 ml dung dịch dung môi (b) và 5,0 ml chất pha loãng thích hợp vào một lọ đựng mẫu tiêm.

Dung dịch đối chiếu (c): Lấy 1,0 ml dung dịch dung môi (c) và 5,0 ml dung dịch mẫu thử vào một lọ đựng mẫu tiêm.

Dung dịch đối chiếu (d): Lấy 1,0 ml dung dịch mẫu trắng và 5,0 ml chất pha loãng thích hợp vào một lọ đựng mẫu tiêm.

Đóng kín các lọ đựng mẫu tiêm nói trên bằng nút cao su có bao lớp polytetrafluoroethylen và giữ bởi một vòng chụp ngoài bằng nhôm. Lắc mạnh để có một dung dịch đồng nhất.

Các điều kiện tiêm pha hơi tĩnh có thể dùng:

Thông số hoạt động	Cách pha mẫu		
	1	2	3
Nhiệt độ cân bằng (°C)	80	105	80
Thời gian cân bằng (phút)	60	45	45
Nhiệt độ dòng chảy (°C)	85	110	105
Khí mang	Nitrogen hoặc heli dùng cho sắc ký khí ở áp suất thích hợp		
Thời gian điều áp (giây)	30	30	30
Thể tích tiêm (ml)	1	1	1

Điều kiện sắc ký

Hệ sắc ký A

Cột mao quản thủy tinh hoặc cột có nòng rộng, dài 30 m, đường kính trong 0,32 mm hoặc 0,53 mm được phủ bằng lớp các polymer liên kết mạng gồm polydimethylsiloxan 94 % và polycyanopropylphenylsiloxan 6 % (dày 1,8 µm hoặc 3,0 µm).

Khí mang: Nitrogen dùng cho sắc ký khí hoặc heli dùng cho sắc ký khí, tỷ lệ chia dòng 1 : 5, tốc độ dòng khoảng 35 cm/s.

Detector ion hóa ngọn lửa [có thể dùng detector khối phổ hoặc để phát hiện dung môi tồn dư nhóm 1 ở dạng hợp chất clor hóa có thể dùng detector thu (bắt) điện tử].

Duy trì nhiệt độ cột ở 40 °C, trong 20 phút, sau đó gia tăng nhiệt độ với tốc độ 10 °C/min cho đến khi đạt 240 °C, giữ ở 240 °C trong 20 phút. Nhiệt độ buồng tiêm 140 °C, nhiệt độ detector 250 °C.

Hệ sắc ký B

Cột mao quản thủy tinh hoặc cột có nòng rộng, dài 30 m có đường kính trong 0,32 mm hoặc 0,53 mm, được phủ macrogol 20 000 dày 0,25 µm.

Khí mang: Nitrogen dùng cho sắc ký khí hoặc heli dùng cho sắc ký khí, tỷ lệ chia dòng 1:5, tốc độ dòng khoảng 35 cm/s.

Detector ion hóa ngọn lửa [có thể dùng detector khối phổ hoặc để phát hiện dung môi tồn dư nhóm 1 ở dạng hợp chất clorid có thể dùng detector thu (bắt) điện tử].

Duy trì nhiệt độ cột ở 50 °C trong 20 phút, sau đó gia tăng nhiệt độ với tốc độ 6 °C/ min cho đến khi đạt 165 °C. Giữ ở 165 °C trong 20 phút. Nhiệt độ buồng tiêm ở 140 °C, nhiệt độ detector ở 250 °C.

Phân tích trên hệ A

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (a), ghi sắc ký đồ ở các điều kiện sao cho có thể xác định

được tỷ lệ tín hiệu/nhiều của 1,1,1-tricloroethan. Tỷ lệ tín hiệu/nhiều của 1,1,1-tricloroethan không được nhỏ hơn 5; xem sắc ký đồ tại Hình 10.14-1.

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (a₁). Pic của các dung môi nhóm 1 thường được phát hiện.

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (b), ghi sắc ký đồ ở các điều kiện sao cho hệ số phân giải giữa acetonitril và methylen clorid có thể xác định được. Hệ sắc ký A sẽ thích hợp nếu hệ số phân giải giữa acetonitril và methylen clorid không nhỏ hơn 1,0 và sắc ký đồ có dạng như Hình 10.14-2.

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch thử lên cột phân tích của hệ A. Nếu sắc ký đồ thu được không có pic nào tương ứng với một trong các pic của những dung môi tồn dư trong sắc ký đồ cho bởi các dung dịch đối chiếu (a) và (b) thì mẫu thử đạt yêu cầu. Nếu sắc ký đồ của mẫu thử có pic tương ứng với pic của một trong những dung môi tồn dư trong sắc ký đồ cho bởi các dung dịch đối chiếu (a) và (b), thì phải tiếp tục phân tích trên hệ B.

Phân tích trên hệ B

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (a) ghi sắc ký đồ ở các điều kiện sao cho có thể xác định được tỷ lệ tín hiệu/nhiều của benzen. Tỷ lệ tín hiệu/nhiều của benzen không được nhỏ hơn 5. Xem sắc ký đồ tại Hình 10.14-3.

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (a₁). Pic của các dung môi nhóm 1 thường được phát hiện.

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (b), ghi sắc ký đồ ở các điều kiện sao cho hệ số phân giải giữa acetonitril và trichloroethylen có thể xác định được. Hệ sắc ký B sẽ thích hợp nếu hệ số phân giải giữa acetonitril và trichloroethylen không nhỏ hơn 1,0 và sắc ký đồ có dạng như Hình 10.14-4.

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch thử. Nếu sắc ký đồ thu được không có pic nào tương ứng với một trong các pic của dung môi tồn dư trong sắc ký đồ cho bởi các dung dịch đối chiếu (a) và (b) thì mẫu thử đạt yêu cầu. Nếu sắc ký đồ của mẫu thử có pic tương ứng với một trong những pic của dung môi tồn dư trong sắc ký đồ cho bởi các dung dịch đối chiếu (a) và (b) và phù hợp với kết quả phân tích trên hệ A thì tiến hành như sau:

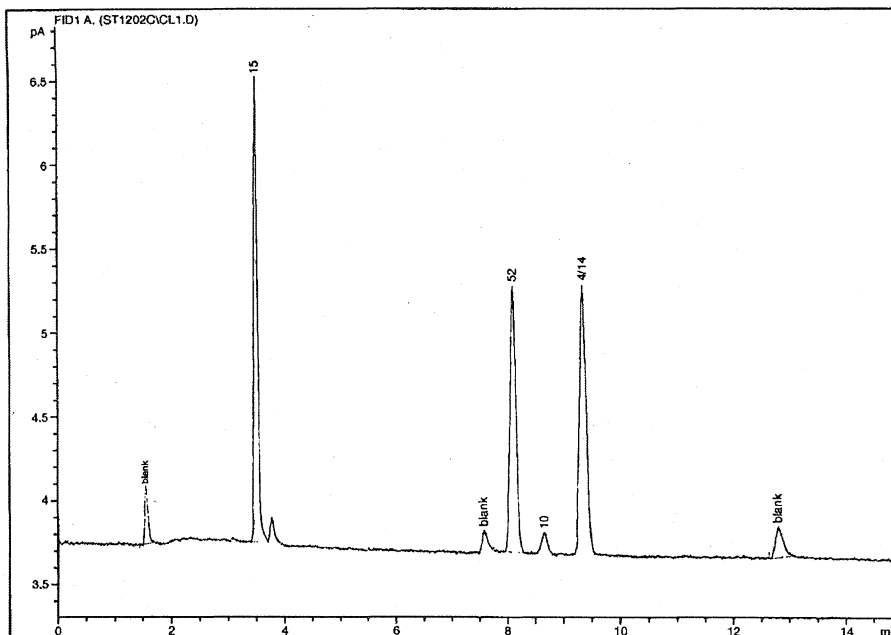
Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (c) lên cột phân tích của hệ A hoặc B. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic dung môi tồn dư (hay của các dung môi tồn dư) không dưới 50 % của thang đo.

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (d) lên cột. Phải không có pic nhiễu nào được phát hiện. Tiêm 1,0 ml pha hơi của dung dịch thử và 1,0 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (c) lên cột. Tiêm lặp lại 2 lần nữa.

Diện tích pic trung bình của dung môi tồn dư trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch thử không được lớn hơn một nửa (1/2) diện tích trung bình của pic tương ứng trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch đối chiếu (c). Thử

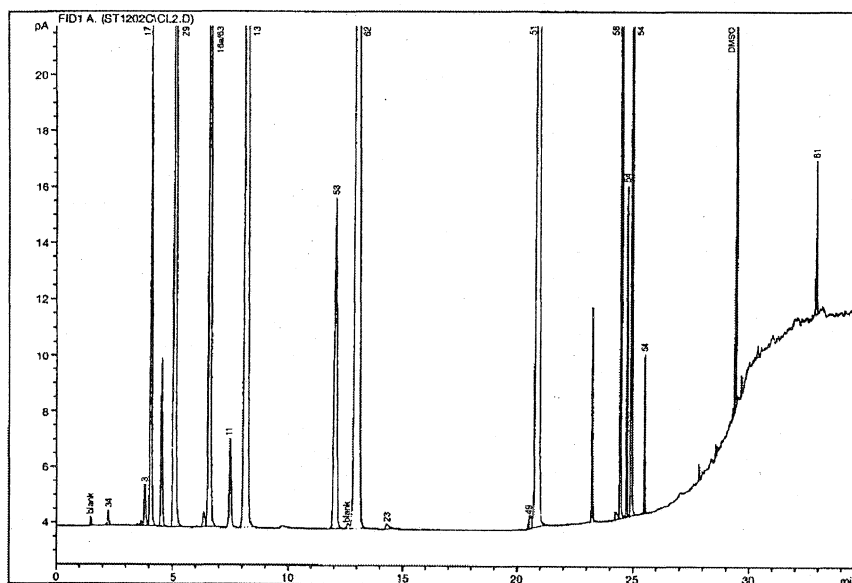
nghiệm chỉ có giá trị nếu độ lệch chuẩn tương đối của các hiệu số giữa ba cặp diện tích pic của chất phân tích thu được từ dung dịch đối chiếu (a) và dung dịch thử nhỏ hơn 15 %.

Khi hàm lượng dung môi tồn dư thuộc nhóm 2 hoặc nhóm 3 ở mức 0,1 % hoặc lớn hơn thì có thể tiến hành định lượng bằng phương pháp thêm chuẩn.



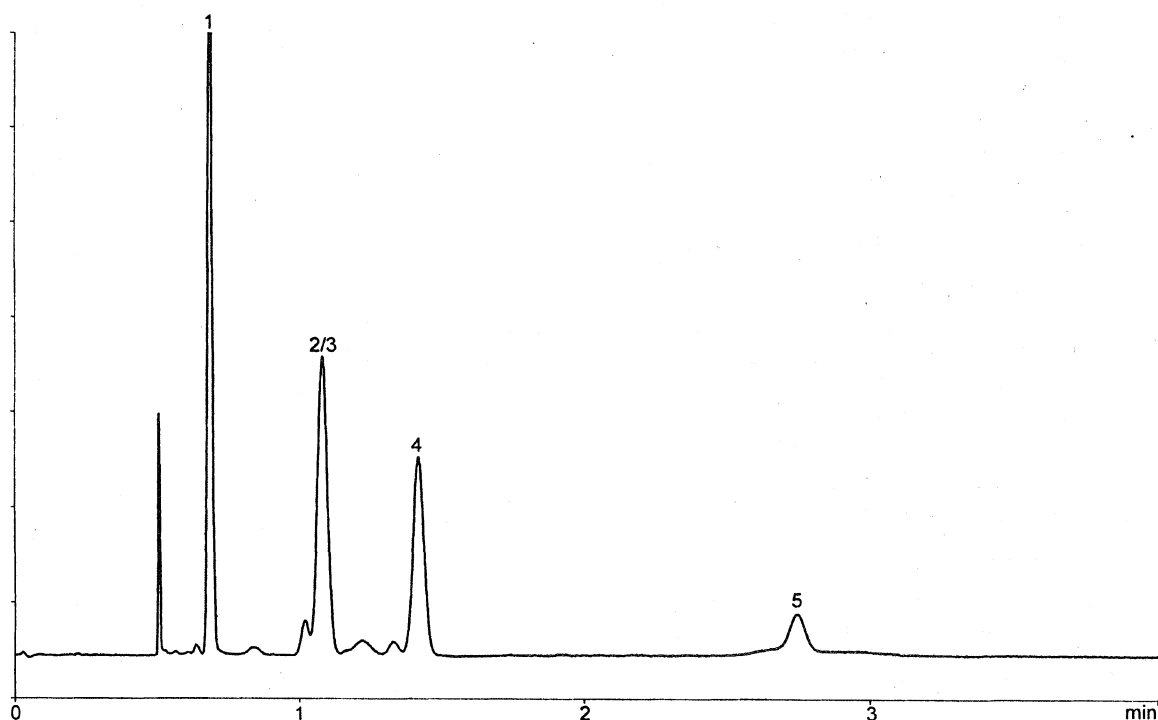
- | | | |
|-------------------------|------------------------|-------------------------|
| 4. benzen | 14. 1,2-dicloroethan | 52. 1,1,1-tricloroethan |
| 10. carbon tetrachlorid | 15. 1,1-dicloroethylen | |

Hình 10.14-1- Sắc ký đồ các dung môi nhóm 1 phân tích trên hệ thống A theo qui trình 1.
Detector ion hóa ngọn lửa.



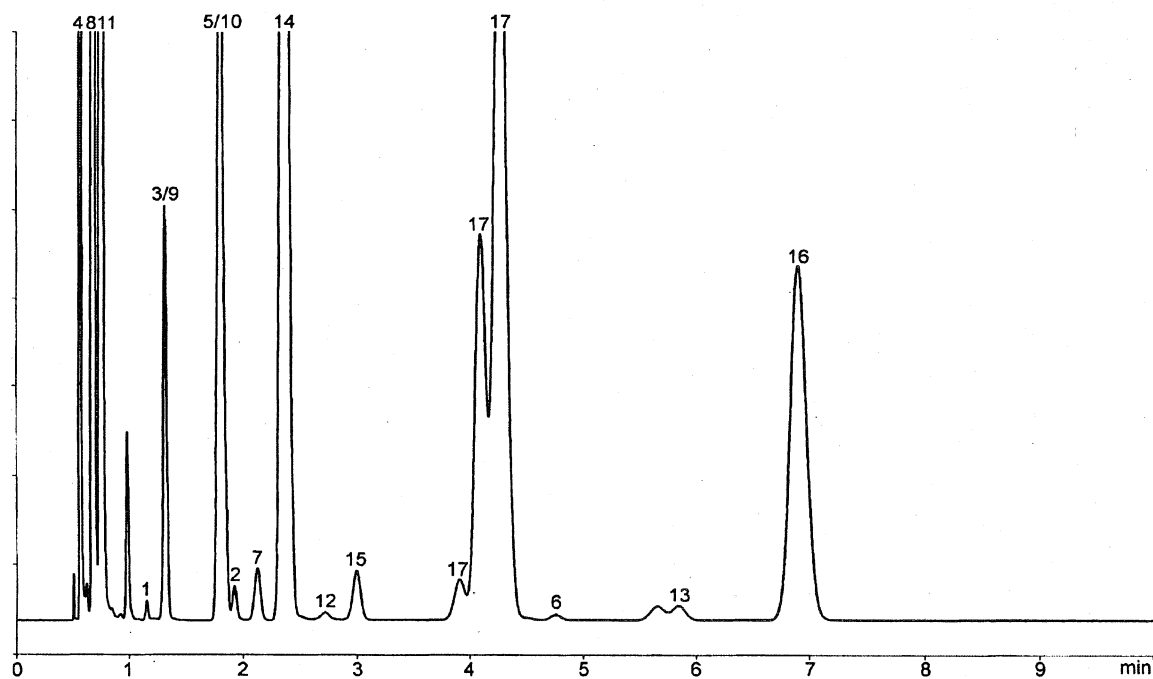
- | | | | |
|------------------------------|-------------------|-------------------------------|------------------------|
| 3. acetonitril | 17. dicloromethan | 49. pyridin | 61. tetralin |
| 11. cloroform | 23. 1,4-dioxan | 51. toluen | 62. methylcyclohexan |
| 13. cyclohexan | 29. hexan | 53. 1,1,2-tricloroethylen | 63. nitromethan |
| 15. 2-hexanon | 30. 2-hexanon | 54. xylen (ortho, meta, para) | 64. 1,2-dimethoxyethan |
| 16a. cis-1,2- dicloroethylen | 34. methanol | 58. clorobenzen | |

Hình 10.14-2- Sắc ký đồ các dung môi nhóm 2 phân tích trên hệ thống A theo qui trình 1.
Detector ion hóa ngọn lửa.



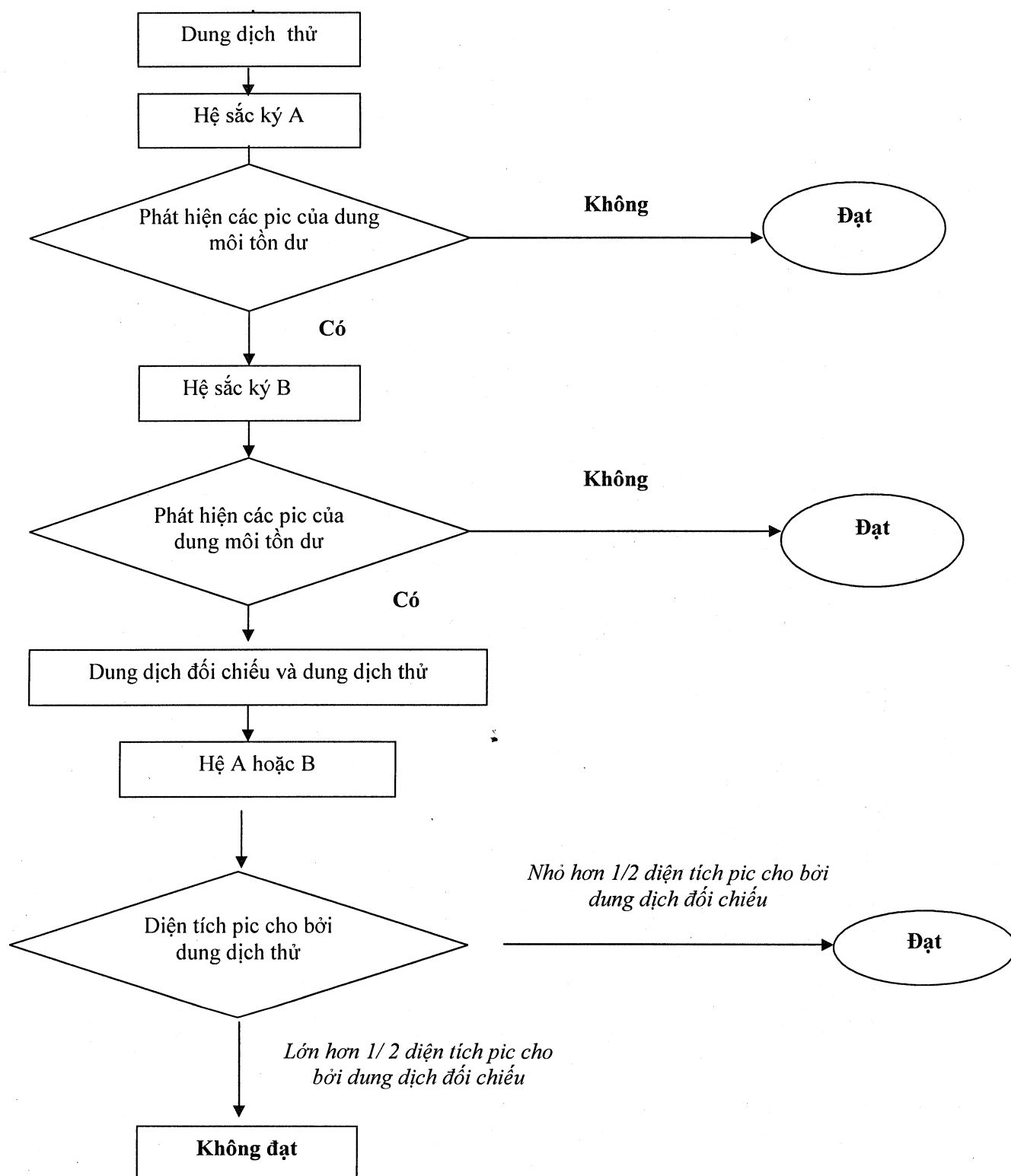
- | | | |
|------------------------|-----------------------|---------------------|
| 1. 1,1-dicloroethen | 3. carbon tetraclohid | 5. 1,2-dicloroethan |
| 2. 1,1,1-tricloroethan | 4. benzen | |

Hình 10.14-3 - Sắc ký đồ các dung môi nhóm 1 phân tích trên hệ thống B theo qui trình 1.
Detector ion hóa ngọn lửa.



- | | | |
|----------------------------------|-------------------------|---------------------------------|
| 1. methanol | 7. cloroform | 13. pyridin |
| 2. acetonitril | 8. cyclohexan | 14. toluen |
| 3. dicloromethan | 9. 1,2-dimethoxyethan | 15. 2-hexanon |
| 4. hexan | 10. 1,1,2-tricloroethen | 16. clorobenzen |
| 5. <i>cis</i> -1,2-dichloroethen | 11. methylcyclohexan | 17. xylen (ortho, meta, para) |
| 6. nitromethan | 12. 1,4-dioxan | 18. tetralin ($t_r = 28$ min). |

Hình 10.14-4 - Sắc ký đồ các dung môi nhóm 2, phân tích trên hệ thống B theo qui trình 1.
Detector ion hóa ngọn lửa



Hình 10.14-5- Sơ đồ các bước tiến hành định tính và thử giới hạn các dung môi tồn dư

10.14.1 Quy định đối với tạp chất là dung môi tồn dư

(Theo tài liệu CPMP/ICH/283/95)

1. Mở đầu

Mục tiêu của Quy định này là đề ra lượng dung môi cho phép tồn dư trong dược phẩm, nhằm bảo đảm sự an toàn của người bệnh. Quy định khuyến cáo dùng các dung môi ít độc và đưa ra những giới hạn độc tính có thể chấp nhận được đối với một số dung môi.

Dung môi tồn dư trong dược phẩm là các chất hữu cơ bay hơi, được sử dụng hoặc sinh ra trong quá trình sản xuất các dược chất, tá dược hoặc trong quá trình bào chế các dược phẩm. Các dung môi này không loại bỏ được hoàn toàn trong quá trình sản xuất. Sự chọn lọc dung môi thích hợp dùng trong tổng hợp các dược chất có thể nâng cao sản lượng hoặc quyết định các đặc tính như dạng tinh thể, độ tinh khiết, tính hòa tan của sản phẩm. Vì vậy, đôi khi dung môi là một yếu tố quyết định trong quy trình tổng hợp. Quy định này không đề cập đến các dung môi dùng có cân nhắc kỹ lưỡng như một chất phụ gia, hoặc đến các solvat. Tuy nhiên hàm lượng dung môi trong các sản phẩm loại này phải được xác định và chứng minh hợp lý.

Vì các dung môi tồn dư không có tác dụng điều trị, các dung môi này phải được loại bỏ đến mức tối đa để đạt được các yêu cầu kỹ thuật của sản phẩm, việc thực hành tốt sản xuất (GMP) hoặc các yêu cầu chất lượng khác. Dược phẩm phải chứa một mức dung môi tồn dư không được cao hơn các dữ liệu an toàn. Phải tránh dùng một số dung môi có độc tính không thể chấp nhận được (dung môi Nhóm 1, Bảng 10.14.1-1), trừ khi lợi ích của việc sử dụng chúng được xác định chắc chắn. Một số dung môi có độc tính ít nguy hiểm hơn (dung môi Nhóm 2, Bảng 10.14.1-2) cũng cần phải dùng hạn chế, để bảo vệ người bệnh khỏi tác dụng độc hại. Tốt nhất phải dùng các dung môi ít độc (dung môi Nhóm 3, Bảng 10.14.1-3).

2. Phạm vi áp dụng

Các dung môi tồn dư trong dược chất, tá dược và dược phẩm thuộc phạm vi áp dụng của quy định này. Vì thế phải thực hiện phép thử tìm các dung môi tồn dư trong quá trình sản xuất hay tinh chế để kiểm soát sự hiện diện của chúng. Chỉ cần kiểm tra đối với các dung môi đã được sử dụng hay được sản sinh ra trong quá trình sản xuất hoặc tinh chế các dược chất, tá dược hoặc dược phẩm đó. Mặc dù các nhà sản xuất có thể chọn phương pháp xác định hàm lượng dung môi tồn dư trong sản phẩm, ta vẫn có thể tính hàm lượng đó, đi từ hàm lượng dung môi tồn dư trong các thành phần dùng để sản xuất ra sản phẩm đó. Nếu kết quả tính toán bằng hoặc thấp hơn giới hạn cho phép đã được khuyến cáo trong bản quy định này, thì không

cần tiến hành thí nghiệm trên sản phẩm. Trái lại, nếu kết quả tính được vượt mức giới hạn cho phép, dược phẩm phải được thử nghiệm để biết chắc chắn lượng tồn dư dung môi đó có nằm trong phạm vi cho phép không. Sản phẩm cũng phải được thử nghiệm nếu có dùng dung môi trong quá trình sản xuất.

Quy trình này không áp dụng cho dược chất, tá dược hoặc sản phẩm mới đang trong quá trình nghiên cứu áp dụng lâm sàng và cũng không áp dụng cho các dược phẩm đang được lưu hành trên thị trường.

Quy định này áp dụng cho mọi dạng bào chế và mọi cách dùng thuốc. Trong một vài trường hợp, có thể cho phép giới hạn dung môi tồn dư cao hơn như khi dùng trong thời gian ngắn (30 ngày hay ít hơn), hoặc khi dùng dạng thuốc đắp. Việc chứng minh sự đúng đắn của giới hạn cao này phải dựa trên cơ sở của từng trường hợp một.

Xem Chú thích 2 (ở bên dưới) để biết thêm thông tin cơ bản có liên quan tới các dung môi tồn dư.

3. Các nguyên tắc cơ bản

Phân loại dung môi tồn dư theo mức độ nguy hiểm

Thuật ngữ “liều có thể dung nạp được cho mỗi ngày” (*tolerable daily intake, TDI*) được Chương trình quốc tế về an toàn hóa chất (IPCS) sử dụng và thuật ngữ “liều có thể dùng mỗi ngày” (*acceptable daily intake ADI*) được Tổ chức Y tế Thế giới, các Viện và các cơ quan quản lý sức khỏe quốc gia và quốc tế khác sử dụng để chỉ giới hạn hàm lượng các hóa chất độc có thể dùng mỗi ngày.

Thuật ngữ mới “liều phơi nhiễm được phép mỗi ngày” (*permitted daily exposure, PDE*) được nêu trong Quy định này là một lượng dung môi tồn dư trong dược phẩm có thể đưa vào cơ thể, để tránh nhầm với liều ADI của cùng dung môi.

Các dung môi tồn dư ghi trong Quy định này được liệt kê theo tên thông thường. Chúng được phân làm 3 nhóm, tùy thuộc khả năng gây độc đối với sức khỏe con người, như sau:

Nhóm 1: Các dung môi phải tránh sử dụng

Các chất gây ung thư cho người hay có khả năng gây ung thư cho người rõ rệt. Các chất gây nhiễm độc môi trường.

Nhóm 2: Các dung môi phải hạn chế sử dụng

Các chất gây ung thư trên động vật, không độc cho gen hoặc các tác nhân có thể gây độc không hồi phục như độc tính trên thần kinh hoặc gây quái thai. Các dung môi nghi có độc tính quan trọng, nhưng hồi phục được.

Nhóm 3: Các dung môi độc tính thấp

Các dung môi có độc tính thấp trên người: Không cần xác định liều gây tác hại cho sức khỏe.

Các dung môi Nhóm 3 có liều phơi nhiễm được phép mỗi ngày (PDE) bằng hoặc lớn hơn 50 mg/ngày.

Phương pháp xác định giới hạn phơi nhiễm

Phương pháp dùng để xác định liều PDE của các dung môi tồn dư được giới thiệu trong Chú thích 3. Tóm tắt các dữ liệu về độc tính dùng để thiết lập PDE được công bố trong *Pharmeuropa Vol 1, No 1, Supplement April/1997*.

Phương pháp xác định giới hạn dung môi Nhóm 2

Có hai cách có thể áp dụng để xác định giới hạn cho các dung môi Nhóm 2.

Cách 1:

Có thể dùng hàm lượng (nồng độ) giới hạn tính theo phần triệu (ppm) ghi trong Bảng 10.14.1-2. Các nồng độ này được tính theo công thức (1) với lượng chế phẩm dùng mỗi ngày cho là 10 g.

$$\text{Nồng độ (phần triệu)} = \frac{1000 \times \text{PDE}}{10} \quad (1)$$

Trong đó:

PDE là liều phơi nhiễm được phép mỗi ngày tính theo mg/ngày;

10 là số lấy làm lượng chế phẩm dùng trong mỗi ngày và tính theo g/ngày.

Giới hạn này áp dụng cho mọi dược chất, tá dược hoặc dược phẩm. Cách 1 có thể áp dụng nếu liều dùng hàng ngày không được biết hoặc không được quy định cụ thể. Khi mọi tá dược, dược chất có trong công thức bào chế đáp ứng với giới hạn cho bởi cách 1, các thành phần của chế phẩm có thể dùng theo bất kỳ tỷ lệ nào. Không cần tính toán gì thêm, nếu liều dùng mỗi ngày không quá 10 g. Chế phẩm có liều dùng lớn hơn 10 g mỗi ngày phải tính theo cách 2.

Cách 2:

Không nhất thiết mỗi thành phần của dược phẩm đều phải đáp ứng giới hạn đã đưa ra trong cách 1. Có thể dùng PDE tính theo mg/ngày ghi trong Bảng 10.14.1-2, cùng với liều tối đa mỗi ngày và công thức (1) để xác định hàm lượng dung môi tồn dư cho phép trong dược phẩm. Các giới hạn này được chấp nhận miễn là chứng minh được rằng dung môi tồn dư đã được giảm đến lượng thực tế tối thiểu. Các giới hạn này phải thực tế có liên quan đến độ chính xác của phép phân tích, điều kiện sản xuất, các thay đổi hợp lý của quá trình sản xuất và các giới hạn phải thực hiện các tiêu chuẩn công nghệ đương thời.

Có thể áp dụng cách 2 bằng cách cộng các lượng dung môi tồn dư trong mỗi thành phần của chế phẩm. Tổng lượng dung môi dùng trong ngày phải thấp hơn PDE.

Hãy xét một ví dụ áp dụng cách 1 và cách 2 cho dung môi acetonitril trong một dược phẩm. PDE của acetonitril là 4,1 mg/ngày. Như vậy, giới hạn tính theo cách 1 là 410 phần triệu (410 ppm). Lượng dùng tối

đa mỗi ngày của dược phẩm là 5,0 g; dược phẩm chứa 2 tá dược. Thành phần dược phẩm và hàm lượng tối đa của acetonitril tồn dư thể hiện trong bảng sau đây:

Thành phần	Lượng trong công thức bào chế	Hàm lượng acetonitril	Lượng phơi nhiễm mỗi ngày
Dược chất	0,3 g	800×10^{-6}	0,24 mg
Tá dược 1	0,9 g	400×10^{-6}	0,36 mg
Tá dược 2	3,8 g	800×10^{-6}	3,04 mg
Dược phẩm	5,0 g	728×10^{-6}	3,64 mg

Tá dược 1 đáp ứng giới hạn tính theo cách 1.

Tá dược 2, dược chất và dược phẩm không đáp ứng giới hạn tính theo cách 1.

Tuy thế, dược phẩm tính theo cách 2 đáp ứng giới hạn 4,1 mg/ngày, và như vậy phù hợp với yêu cầu của quy định này.

Hãy xét một ví dụ khác, coi acetonitril là dung môi tồn dư. Lượng dùng tối đa mỗi ngày của một dược phẩm là 5,0 g, dược phẩm có chứa 2 tá dược. Thành phần dược phẩm và hàm lượng tối đa của acetonitril tồn dư thể hiện trong bảng sau:

Thành phần	Lượng trong công thức bào chế	Hàm lượng acetonitril	Lượng phơi nhiễm mỗi ngày
Dược chất	0,3 g	800×10^{-6}	0,24 mg
Tá dược 1	0,9 g	2000×10^{-6}	1,08 mg
Tá dược 2	3,8 g	800×10^{-6}	3,04 mg
Dược phẩm	5,0 g	1016×10^{-6}	5,08 mg

Trong ví dụ này, dược phẩm không đáp ứng giới hạn tính theo cách 1 và cả cách 2 bằng cách cộng. Nhà sản xuất phải thử nghiệm dược phẩm để xem quá trình bào chế có làm giảm mức độ tồn dư của acetonitril không. Nếu suốt quá trình bào chế, mức acetonitril không giảm tới giới hạn cho phép, khi đó nhà sản xuất phải tiến hành các bước làm giảm lượng acetonitril trong dược phẩm. Nếu tất cả các bước này không làm giảm được mức tồn dư của acetonitril, trong trường hợp đặc biệt, nhà sản xuất có thể cung cấp bản tóm tắt những cố gắng để giảm lượng dung môi tồn dư, nhằm đạt quy định này, và đưa ra lý lẽ phân tích nguy cơ/lợi ích khi dùng chế phẩm có chứa dung môi tồn dư ở mức cao này.

Quy trình phân tích dung môi tồn dư

Phương pháp phân tích dung môi tồn dư thông thường là dùng kỹ thuật sắc ký như sắc ký khí. Nếu thích hợp, dùng phương pháp xác định dung môi tồn dư mô tả trong dược điển. Ngoài ra, nhà sản xuất có thể tự do

chọn lựa một quy trình phân tích có hiệu lực thích hợp nhất để áp dụng riêng. Nếu chỉ hiện diện dung môi Nhóm 3 thôi, có thể dùng một phương pháp không đặc hiệu như phương pháp Xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6).

Thẩm định các phương pháp xác định dung môi tồn dư phải tuân thủ các quy định của ICH (Hội nghị quốc tế về hài hòa các yêu cầu kỹ thuật để đăng ký các thuốc dùng cho người) ghi trong “Văn bản thẩm định quy trình phân tích” (*Text on validation of analytical procedures*) và “Mở rộng văn bản thẩm định quy trình phân tích” (*Extension of the ICH Text on validation of analytical procedures*).

Báo cáo mức dung môi tồn dư

Nhà sản xuất dược phẩm cần nắm chắc thông tin về nồng độ dung môi tồn dư trong dược chất và tá dược để được phẩm sản xuất ra đạt được mức của Quy định này.

Sau đây là các ví dụ về các thông tin mà nhà cung cấp tá dược hay dược chất có thể cung cấp cho nhà sản xuất dược phẩm. Nhà cung cấp có thể chọn một trường hợp thích hợp trong số các trường hợp sau đây: Chỉ có các dung môi Nhóm 3 hiện diện. Mất khối lượng do làm khô không quá 0,5 %.

Chỉ có các dung môi Nhóm 2 (X, Y...) hiện diện. Tất cả phải thấp hơn giới hạn tính theo cách 1 (ở đây, nhà cung cấp chỉ rõ tên các dung môi Nhóm 2: X, Y...).

Chỉ có các dung môi Nhóm 2 (X, Y...) và các dung môi Nhóm 3 hiện diện. Các dung môi Nhóm 2 tồn dư phải dưới mức giới hạn tính theo cách 1 và các dung môi Nhóm 3 tồn dư không quá 0,5 %.

Nếu chắc chắn hiện diện các dung môi Nhóm 1 thì phải định tính và định lượng chúng. Dung môi chắc chắn hiện diện là những dung môi được dùng trong giai đoạn cuối của quy trình sản xuất và các dung môi khác được dùng trước đó mà không được loại bỏ hoàn toàn bằng các biện pháp hữu hiệu.

Nếu dung môi Nhóm 2 hoặc Nhóm 3 hiện diện ở mức lớn hơn giới hạn cho phép tính theo Cách 1 (Nhóm 2) hay lớn hơn 0,5 % (Nhóm 3) thì chúng phải được định tính và định lượng.

4. Giới hạn dung môi tồn dư

Dung môi phải tránh sử dụng

Không được sử dụng các dung môi Nhóm 1 trong việc sản xuất dược chất, tá dược và dược phẩm. Chúng có độc tính không thể chấp nhận được, hoặc có tác hại đến môi trường. Khi buộc phải sử dụng chúng trong quy trình sản xuất một dược phẩm có tác dụng trị liệu vượt trội rõ rệt, phải tuân thủ giới hạn ghi trong Bảng 10.14.1-1; trừ trường hợp buộc phải chấp nhận giới

hạn lớn hơn đã được giải thích chứng minh rõ. Dung môi 1,1,1-tricloroethan được xếp trong Bảng 10.14.1-1 vì là một tác nhân nguy hại cho môi trường. Giới hạn 1500 phần triệu dựa trên cơ sở thông tin về dữ liệu an toàn.

Dung môi phải hạn chế sử dụng

Các dung môi trong Bảng 10.14.1-2 phải được quy định mức giới hạn có trong dược phẩm vì độc tính vốn có của chúng. Các giá trị PDE được đưa ra dao động trong khoảng 0,1 mg/ngày. Hàm lượng tồn dư trong dược phẩm dao động trong khoảng 10 phần triệu.

Dung môi có độc tính thấp

Các dung môi Nhóm 3 (có trong Bảng 10.14.1-3) có thể coi như ít độc và có nguy cơ thấp đối với sức khỏe con người. Nhóm 3 bao gồm các dung môi không nguy hiểm đối với sức khỏe con người ở hàm lượng thường được chấp nhận trong dược phẩm. Tuy nhiên chưa có các nghiên cứu về độc tính trường diễn và về khả năng gây ung thư của nhiều dung môi thuộc nhóm này. Các dữ liệu hiện có cho thấy các dung môi này tỏ ra ít độc trong các nghiên cứu cấp diễn hoặc ngắn hạn và cho kết quả âm tính với những thử nghiệm độc tính trên gen. Do đó, coi như được phép dùng các dung môi này với lượng 50 mg mỗi ngày hoặc thấp hơn (tương ứng với hàm lượng 5000×10^{-6} hoặc 0,5 % tính theo cách 1) mà không cần phải thuyết minh. Có thể dùng ở mức cao hơn, miễn là thực tế các mức đó có liên quan đến khả năng sản xuất và thực hành sản xuất tốt.

Dung môi chưa có đủ thông tin về độc tính

Các dung môi trong Bảng 10.14.1-4 có thể cũng được các nhà sản xuất dược chất, tá dược hoặc dược phẩm quan tâm. Tuy nhiên, chưa có các dữ liệu đầy đủ về độc tính của chúng để làm cơ sở cho việc xác định PDE. Khi sử dụng các dung môi này trong sản xuất, nhà sản xuất phải giải trình rõ ràng sự tồn dư của các dung môi này trong sản phẩm của mình.

Bảng 10.14.1-1: Nhóm 1, các dung môi phải tránh sử dụng trong dược phẩm

Dung môi	Nồng độ giới hạn (µg/g)	Độc tính
Benzen	2	Gây ung thư
Carbon tetraclohid	4	Độc và nguy hại cho môi trường
1,2- Dicloroethan	5	Độc
1,1- Dicloroethen	8	Độc
1,1,1- Tricloroethan	1500	Nguy hại cho môi trường

Bảng 10.14.1-2: Nhóm 2, các dung môi phải hạn chế sử dụng trong dược phẩm

Dung môi	Liều phơi nhiễm được phép mỗi ngày (PDE) (mg/ngày)	Nồng độ giới hạn (µg/g)
Acetonitril	4,1	410
Clorobenzen	3,6	360
Cloroform	0,6	60
Cyclohexan	38,8	3880
1,2- Dicloroethen	18,7	1870
Dicloromethan	6,0	600
1,2- Dimethoxyethan	1,0	100
N,N- Dimethylacetamid	10,9	1090
N,N- Dimethylformamid	8,8	880
1.4- Dioxan	3,8	380
2- Ethoxyethanol	1,6	160
Ethylenglycol	6,2	620
Formamid	2,2	220
Hexan	2,9	290
Methanol	30,0	3000
2- Methoxyethanol	0,5	50
Methylbutylketon	0,5	50
Methylcyclohexan	11,8	1180
N- Methylpyrrolidon	5,3	530
Nitromethan	0,5	50
Pyridin	2,0	200
Sulfolan	1,6	160
Tetrahydrofuran	7,2	720
Tetralin	1,0	100
Toluen	8,9	890
1,1,2- Tricloroethen	0,8	80
Xylen*	21,7	2170

* Thường dùng hỗn hợp gồm m-xylen 60 %; p-xylen 14 %; o-xylen 9 % và ethyl benzen 17 %.

Bảng 10.14.1-3: Nhóm 3, các dung môi phải được giới hạn vì GMP hoặc vì các yêu cầu chất lượng khác

Acid acetic	Heptan
Aceton	Isobutyl acetat
Anisol	Isopropyl acetat
1- Butanol	Methyl acetat
2- Butanol	3- Methyl-1-butanol
Butyl acetat	Methylethylketon
Tert – Butylmethyl ether	Methylisobutylketon
Cumen	2- Methyl-1-propanol
Dimethylsulfoxid	Pentan
Ethanol	1- Pentanol
Ethyl acetat	1- Propanol
Ethyl ether	2- Propanol
Ethyl format	Propyl acetat
Acid formic	

Bảng 10.14.1-4: Các dung môi chưa có đủ thông tin về độc tính

1,1- Diethoxypropan	Methylisopropylketon
1,1- Dimethoxymethan	Methyltetrahydrofuran
2,2- Dimethoxypropan	Petroleum
Isooctan	Acid trichloroacetic
Isopropyl ether	Acid trifluoroacetic

Chú thích 1: Thuật ngữ

Genotoxic carcinogens: Tác nhân gây ung thư do tác động lên gen hay chromosom.

LOEL: Viết tắt của từ “lowest-observed effect level” (mức phát hiện gây hại thấp nhất), liều thấp nhất dùng trong một thử nghiệm hay nhóm các thử nghiệm gây sự gia tăng có ý nghĩa sinh học về tần số hoặc về mức độ nghiêm trọng của bất kỳ các tác dụng nào đó trên người hay động vật bị phơi nhiễm.

Modifying factor: Hệ số hiệu chỉnh, là hệ số được chuyên gia độc chất học xác định và áp dụng cho các dữ liệu định lượng sinh học để tính các thông số an toàn cho người.

Neurotoxicity: Nhiễm độc thần kinh

NOEL: Viết tắt của từ “no-observed effect level” (mức không phát hiện gây hại), liều cao nhất của chất đã dùng mà không gây sự gia tăng có ý nghĩa sinh học về tần số hoặc về mức độ nghiêm trọng của bất kỳ các tác dụng nào đó trên người hay động vật bị phơi nhiễm.

PDE: viết tắt của từ “Permitted daily exposure”

Permitted daily exposure: Lượng cao nhất có thể dùng trong một ngày của dung môi tồn dư trong dược phẩm.

Reversible toxicity: Độc tính phục hồi được, tức là sẽ mất đi sau khi kết thúc phơi nhiễm.

Strongly suspected human carcinogen: Tác nhân nghi ngờ gây ung thư trên người, một chất không có dấu hiệu dịch tế học là có khả năng gây ung thư nhưng lại cho kết quả dương tính về độc tính trên gen và các dấu hiệu rõ ràng về khả năng gây ung thư trên loài gặm nhấm.

Teratogenicity: Độc tính gây quái thai, sự cố gây dị tật về cấu trúc trong quá trình phát triển thai nhi khi sử dụng một chất trong thời kỳ mang thai.

Chú thích 2:**2.1 Quy chế bảo vệ môi trường đối với các dung môi hữu cơ bay hơi**

Một số dung môi thường dùng trong sản xuất dược phẩm được liệt kê như các hóa chất độc trong các chuyên luận EHC (Environmental Health Criteria) và IRIS (Integrated Risk Information System). Trong các mục tiêu của các tổ chức như “Chương trình thế giới về an toàn hóa chất” (IPCS = International Programme on Chemical Safety), “Cơ quan bảo vệ môi trường Mỹ

(USEPA = United States Environmental Protection Agency) và “Cơ quan quản lý thực phẩm và dược phẩm Mỹ (USFDA = United States Food and Drug Administration) có việc xác định các mức phơi nhiễm có thể chấp nhận được. Mục đích là bảo vệ sức khỏe con người và giữ gìn sự trong sạch vẹn toàn của môi trường, chống lại các tác dụng có thể có hại của các hóa chất do phơi nhiễm lâu dài tại môi trường. Các phương pháp dùng để xác định mức tối đa phơi nhiễm an toàn thường được căn cứ trên các thử nghiệm dài hạn. Khi không có các dữ liệu từ những thử nghiệm dài hạn, có thể dùng dữ liệu từ các thử nghiệm ngắn hạn với việc cải tiến cách tiếp cận như việc sử dụng các yếu tố hệ số an toàn lớn hơn. Cách tiếp cận nói ở trên đây chủ yếu liên quan tới các phơi nhiễm dài hạn hay suốt đời, đối với các cộng đồng dân cư, trong môi trường xung quanh như không khí, thức ăn, nước uống và các môi trường khác.

2.2. Dung môi tồn dư trong thuốc

Các giới hạn phơi nhiễm trong Quy định này được thiết lập căn cứ vào các phương pháp và các dữ liệu về độc tính mô tả trong các tiêu chuẩn EHC và trong các chuyên luận của EHC và IRIS. Tuy nhiên, một số giả định đặc biệt về dung môi tồn dư trong việc tổng hợp và bào chế các dược phẩm phải được tính đến khi thiết lập các giới hạn phơi nhiễm. Đó là:

- 1/ Những người bệnh (không phải toàn thể cộng đồng) phải sử dụng thuốc để phòng hoặc chữa bệnh.
- 2/ Việc giả định người bệnh bị phơi nhiễm suốt đời là không cần thiết đối với đa số các dược phẩm, song có thể thích hợp như một giả thiết nghiên cứu, nhằm giảm nguy cơ đến sức khỏe con người.
- 3/ Các dung môi tồn dư là những thành phần không thể tránh được trong sản xuất dược phẩm và còn thường là một phần của thuốc.
- 4/ Các dung môi tồn dư phải không được vượt quá các mức độ khuyến cáo, trừ những trường hợp đặc biệt.
- 5/ Các dữ liệu từ các nghiên cứu độc chất học dùng để xác định các mức chấp nhận được cho các dung môi tồn dư phải được thiết lập bằng cách sử dụng các quy trình thích hợp, chẳng hạn các quy trình do OECD mô tả và sử dụng cuốn sách đồ của Tổ chức quản lý thực phẩm và dược phẩm của Mỹ (*FDA Red book*).

Chú thích 3: Phương pháp thiết lập các giới hạn phơi nhiễm

Phương pháp đánh giá nguy cơ của Gaylor - Kodell (Xem: Gaylor, D.W. và Kodell, R. L. - Thuật toán nội suy tuyến tính để đánh giá liều thấp của các chất độc. *J. Environ Pathology*, 4, 305, 1980) thích hợp với các dung môi gây ung thư thuộc Nhóm 1. Chỉ trong các trường hợp đã có các dữ liệu đáng tin cậy về tính gây ung thư thì phải áp dụng ngoại suy bằng cách dùng các mô hình toán học để thiết lập các giới hạn phơi

nh nhiễm. Các giới hạn phơi nhiễm của các dung môi Nhóm 1 có thể được xác định với việc sử dụng một thông số an toàn lớn (từ 10 000 đến 100 000) đối với “mức không phát hiện gây hại” (NOEL). Việc phát hiện và định lượng các dung môi này phải được thực hiện bằng các kỹ thuật phân tích tiên tiến.

Các mức phơi nhiễm chấp thuận được của các dung môi Nhóm 2 ghi trong quy định này được thiết lập bằng cách tính các giá trị PDE theo các quy trình xác định giới hạn phơi nhiễm của các thuốc (xem *Pharmacopeial Forum* 11-12/1989) và theo phương pháp đã được Chương trình thế giới về an toàn hóa chất (IPCS) thừa nhận nhằm đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe con người do hóa chất (xem *Environmental Health Criteria* 170, WHO, 1994). Các phương pháp này tương tự như các phương pháp của Cơ quan bảo vệ môi trường Mỹ (USEPA) và của Cơ quan quản lý thực phẩm và dược phẩm Mỹ (USFDA) và các tổ chức khác nữa. Phương pháp được giới thiệu sơ lược ở đây nhằm cung cấp một hiểu biết tốt hơn nguồn gốc của các liều phơi nhiễm được phép mỗi ngày (PDE). Không nhất thiết phải thực hiện các phép tính toán này mà sử dụng ngay các giá trị PDE đã ghi trong các bảng trình bày ở Mục 4 của Quy định này.

Giới hạn PDE được tính từ “mức không phát hiện gây hại” (NOEL) hoặc từ “mức phát hiện gây hại thấp nhất” (LOEL) trong thử nghiệm trên súc vật như sau:

$$PDE = \frac{NOEL \times \text{thể trọng quy ước}}{F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5}$$

Trong đó:

Thể trọng quy ước là trọng lượng cơ thể người trưởng thành, không phân biệt giới tính, được quy ước để tính ở đây là 50 kg;

F là các hệ số hiệu chỉnh.

PDE thường được tính từ NOEL. Khi không thiết lập được NOEL, có thể dùng LOEL. Các hệ số hiệu chỉnh đề ra ở đây để chuyển đổi các dữ liệu thử nghiệm trên súc vật sang cho người, cũng tương tự như các “hệ số không chắc chắn” (Uncertainty factors) dùng trong “Tiêu chuẩn trong sạch của môi trường” (EHC) (Xem *Environmental Health Criteria* 170, WHO, Geneva, 1994) và “hệ số hiệu chỉnh” (modifying factors) hay “hệ số an toàn” (safety factors) dùng trong *Pharmacopeial Forum*. Giả định 100 % phơi nhiễm toàn thân được sử dụng trong tất cả các tính toán, bất kể dùng thuốc theo đường nào.

Các hệ số hiệu chỉnh

F1 là hệ số ngoại suy giữa các loài:

F1 = 2, khi ngoại suy từ thử nghiệm trên chó sang người;

- F1 = 2,5, khi ngoại suy từ thử nghiệm trên thỏ sang người;
 F1 = 3, khi ngoại suy từ thử nghiệm trên khỉ sang người;
 F1 = 5, khi ngoại suy từ thử nghiệm trên chuột trắng lớn (rat) sang người;
 F1 = 10, khi ngoại suy từ thử nghiệm trên các loài động vật khác sang người;
 F1 = 12, khi ngoại suy từ thử nghiệm trên chuột nhắt sang người.
 F1 tính được khi so sánh tỷ lệ giữa diện tích bề mặt với trọng lượng cơ thể của loài vật tham gia thử nghiệm và của người. Diện tích bề mặt (S) được tính như sau:

$$S = k.M^{0,67}$$

Trong đó:

M là trọng lượng cơ thể (trọng lượng cơ thể của sinh vật tham gia thử nghiệm, dùng trong công thức trên, được liệt kê trong bảng 10.14.2.5);

k = 10

F2 là hệ số chỉ sự khác biệt giữa các cá thể;

F2 = 10, thường dùng cho tất cả các dung môi hữu cơ và dùng thống nhất trong quy định này;

F3 là một hệ số không hằng định, dùng cho các thử nghiệm phơi nhiễm ngắn hạn;

F3 = 1, cho các thử nghiệm kéo dài ít nhất bằng 1/2 đời sống của vật thí nghiệm (1 năm đối với loài gặm nhấm hoặc thỏ, 7 năm đối với chó, mèo hoặc khỉ);

F3 = 1, cho các thử nghiệm về sinh sản, kéo dài trong suốt thời gian hình thành các cơ quan phụ tạng;

F3 = 2, cho các thử nghiệm kéo dài 6 tháng, trên loài gặm nhấm hoặc 3,5 năm trên các con thú không thuộc loài gặm nhấm;

F3 = 5, cho các thử nghiệm kéo dài 3 tháng, trên loài gặm nhấm, hoặc 2 năm trên các con thú không thuộc loài gặm nhấm;

F3 = 10, cho các thử nghiệm ngắn hạn hơn.

Trong mọi trường hợp, khi thử nghiệm kéo dài trong khoảng thời gian nằm giữa 2 mốc thời gian quy định ở trên, thì ta cho F3 giá trị cao, ứng với mốc thời gian thử nghiệm ngắn. Ví dụ: F3 = 2 trong thử nghiệm kéo dài 9 tháng trên loài gặm nhấm (vì 9 tháng nằm trong mốc 1 năm và 6 tháng, do đó lấy F3 bằng F3 của mốc 6 tháng).

F4 là một hệ số áp dụng trong các trường hợp độc tính nghiêm trọng như: Gây ung thư không độc cho gen, độc tính thần kinh, độc tính gây quái thai. Trong các thử nghiệm về độc tính sinh sản, hệ số này được dùng như sau:

F4 = 1, khi gây độc trên bào thai cùng với gây độc trên mẹ;

F4 = 5, khi gây độc trên bào thai, nhưng không gây độc trên mẹ;

F4 = 5, khi gây quái thai cùng với gây độc trên mẹ;

F4 = 10, khi gây quái thai trên bào thai, nhưng không gây độc trên mẹ;

F5 là một hệ số không hằng định, áp dụng khi không thiết lập được “mức không phát hiện gây hại” (NOEL). Khi chỉ có thể xác định được “mức gây hại thấp nhất” (LOEL), có thể cho F5 giá trị cao, có thể tới F5 = 10, tùy thuộc vào mức độ nghiêm trọng của độc tính.

Trọng lượng cơ thể quy ước cho người trưởng thành, không phân biệt giới tính ở đây là 50 kg. Trọng lượng này tương đối thấp hơn trọng lượng chuẩn mực (60 kg đến 70 kg) thường áp dụng trong các tính toán cùng loại (tính liều dùng thuốc) là nhằm mục đích an toàn.

Một số người bệnh có trọng lượng nhẹ hơn 50 kg, những người bệnh này phải được xem xét điều chỉnh bằng cách dùng hệ số an toàn xác định PDE.

Nếu dung môi có trong một công thức được phẩm chuyên dùng cho Nhi khoa, ta phải điều chỉnh thích hợp, vì trọng lượng cơ thể của trẻ thấp.

Thí dụ áp dụng công thức tính PDE:

Hãy xét một thử nghiệm độc tính của acetonitril trên chuột nhắt, thử nghiệm này được tóm tắt trong *Pharmaeuropa Vol 9, No1, Supplement April 1997 page S 24*, “mức không phát hiện gây hại” (NOEL) là 50,7 mg/kg/ngày. PDE của acetonitril trong thử nghiệm này được tính như sau:

$$PDE = \frac{50,7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{ngày}^{-1} \times 50 \text{ kg}}{12 \times 10 \times 5 \times 1 \times 1} = 4,22 \text{ mg/ngày}$$

Trong đó

F1 = 12 là hệ số ngoại suy từ thử nghiệm trên chuột nhắt sang người;

F2 = 10 là hệ số khác biệt giữa các cá thể (thống nhất quy định là F2 = 10);

F3 = 5 khi thời gian thử nghiệm chỉ có 13 tuần (> 3 tháng);

F4 = 1 khi không thấy độc tính nghiêm trọng nào;

F5 = 1 khi “mức không phát hiện gây độc hại” (NOEL) được xác định.

Phương trình dùng cho khí lý tưởng $PV = nRT$ được áp dụng để chuyển hàm lượng chất khí trong thử nghiệm dùng phương pháp xông (inhalation studies) từ đơn vị phần triệu thành đơn vị mg/l hay mg/m³.

Hãy xét thử nghiệm độc tính sinh sản trên chuột trắng bằng cách xông khí carbon tetrachlorid (khối lượng phân tử 153,84) đã được tóm tắt trong *Pharmaeuropa Vol 9, No1, Supplement April 1997, p.S9*:

$$\frac{n}{V} = \frac{P}{RT} = \frac{300 \times 10^{-6} \text{ atm} \times 153840 \text{ mg} \cdot \text{mol}^{-1}}{0,082 \text{ l} \cdot \text{atm} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \times 298 \text{ K}} = \frac{46,15 \text{ mg}}{24,43 \text{ l}}$$

Dùng công thức 1000 lít = 1 m³ để suy ra hàm lượng mg/m³

Bảng 10.14.1-5. Các giá trị dùng tính toán trong tài liệu này

Trọng lượng chuột trắng (Rat)	425 g
Trọng lượng chuột trắng có thai (Pregnant rat)	330 g
Trọng lượng chuột nhắt (Mouse)	28 g
Trọng lượng chuột nhắt có thai (Pregnant mouse)	30 g
Trọng lượng chuột lang (Guinea – pig)	500 g
Trọng lượng khỉ Ấn Độ (Rhesus monkey)	25 kg
Trọng lượng thỏ (có thai hoặc không có thai)	4 kg
Trọng lượng chó săn nhỏ (Beagle dog)	11,5 kg
Dung lượng hô hấp của chuột trắng (Rat respiratory volume)	290 l/ngày
Dung lượng hô hấp của chuột nhắt	43 l/ngày
Dung lượng hô hấp của thỏ	1440 l/ngày
Dung lượng hô hấp của chuột lang	4301 l/ngày
Dung lượng hô hấp của người	28800 l/ngày
Dung lượng hô hấp của chó	9000 l/ngày
Dung lượng hô hấp của khỉ	1150 l/ngày
Lượng nước chuột nhắt dùng	5 ml/ngày
Lượng nước chuột trắng dùng	30 ml/ngày
Lượng thức ăn chuột trắng dùng	30 g/ngày

10.15 XÁC ĐỊNH ETHYLEN OXYD VÀ DIOXAN TỒN DƯ

Thử nghiệm này xác định ethylen oxyd và dioxan tồn dư trong các chất tan trong nước hay trong dimethylacetamid. Đối với các chất không tan hoặc tan không hoàn toàn trong các dung môi trên, việc chuẩn bị dung dịch mẫu thử và các điều kiện sắc ký khí tiêm pha hơi được qui định trong chuyên luận riêng.

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2), kỹ thuật tiêm pha hơi (*head-space gas chromatography*).

Phương pháp 1: Dùng cho chất thử hòa tan hay trộn đều được trong nước.

Dung dịch thử: Cân 1,00 g (M_T) chất thử vào một lọ nhỏ 10 ml (hoặc có thể tích thích hợp) và thêm

1,0 ml nước. Đóng nắp lọ và trộn để thu được dung dịch đồng nhất. Để yên ở 70 °C trong 45 phút.

Dung dịch đối chiếu (a): Cân 1,00 g (M_C) chất thử vào một lọ nhỏ như trên, thêm 0,50 ml dung dịch ethylen oxyd (TT₃) và 0,50 ml dung dịch dioxan (TT₁). Đóng nắp lọ và trộn đều để thu được một dung dịch đồng nhất. Để yên ở 70 °C trong 45 phút.

Dung dịch đối chiếu (b): Trong lọ nhỏ thể tích 10 ml, thêm vào 0,50 ml dung dịch ethylen oxyd (TT₃), 0,10 ml dung dịch acetaldehyd (TT) 0,001 % mới pha và 0,10 ml dung dịch dioxan (TT₁). Đóng nắp lọ và trộn để thu được dung dịch đồng nhất. Để yên ở 70 °C trong 45 phút.

Phương pháp 2: Dùng cho các chất thử hòa tan hay trộn đều được trong dimethylacetamid.

Dung dịch thử: Cân 1,00 g (M_T) chất thử vào một lọ nhỏ 10 ml (hoặc có thể tích thích hợp) và thêm 1,0 ml dimethylacetamid (TT) và 0,2 ml nước. Đóng nắp lọ và trộn để thu được dung dịch đồng nhất. Để yên ở 90 °C trong 45 phút

Dung dịch đối chiếu (a): Cân 1,00 g (M_C) chất thử vào một lọ nhỏ như trên, thêm 1,0 ml dimethylacetamid (TT), thêm 0,10 ml dung dịch dioxan (TT) và 0,10 ml dung dịch ethylen oxyd (TT₂). Đóng nắp lọ và trộn để thu được một dung dịch đồng nhất. Để yên ở 90 °C trong 45 phút

Dung dịch đối chiếu (b): Trong lọ nhỏ thể tích 10 ml, thêm vào 0,10 ml dung dịch ethylen oxyd (TT₂), 0,10 ml dung dịch acetaldehyd (TT) 0,001 % mới pha và 0,10 ml dung dịch dioxan (TT). Đóng nắp lọ và trộn đều để thu được dung dịch đồng nhất. Để yên ở 70 °C trong 45 phút.

Quá trình sắc ký

Điều kiện tiêm pha hơi

Nhiệt độ cân bằng: 70 °C (90 °C đối với dung dịch trong dimethylacetamid).

Thời gian cân bằng: 45 phút.

Nhiệt độ dòng chảy: 75 °C (150 °C đối với dung dịch trong dimethylacetamid).

Thời gian điều áp: 1 phút.

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký khí.

Thời gian tiêm: 12 giây.

Điều kiện sắc ký

Cột thủy tinh hoặc thạch anh 30 m × 0,32 mm, mặt trong được phủ lớp polydimethylsiloxan dày 1,0 μm.

Khí mang: Heli (hoặc nitrogen) dùng cho sắc ký khí, tốc độ dòng khoảng 20 cm/s, tỷ lệ chia dòng 1:20.

Detector: ion hóa ngọn lửa.

Duy trì nhiệt độ cột ở 50 °C trong 5 phút, sau đó tăng đến 180 °C với tốc độ 5 °C/min, sau đó lại tăng đến 230 °C với tốc độ 30 °C/min và giữ ở 230 °C trong 5 phút. Nhiệt độ detector là 250 °C, nhiệt độ buồng tiêm là 150 °C.

Tiêm một lượng thích hợp pha hơi của dung dịch đối chiếu (b), chẳng hạn 1 ml. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao các pic cho bởi ethylen oxyd và acetaldehyd trong sắc ký đồ đạt ít nhất 15 % thang đo. Thử nghiệm không có hiệu lực nếu hệ số phân giải giữa pic cho bởi acetaldehyd và pic cho bởi ethylen oxyd nhỏ hơn 2,0 và pic của dioxan được phát hiện với tỷ lệ tín hiệu/nhiều nhỏ hơn 5.

Tiêm lần lượt những lượng thích hợp pha hơi của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (a), chẳng hạn 1 ml (hoặc bằng lượng dung dịch đối chiếu (b) đã tiêm).

Tiêm lặp lại như trên thêm 2 lần nữa.

Diện tích trung bình của pic ethylen oxyd và dioxan trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch thử không được lớn hơn một nửa (1/2) diện tích trung bình của pic tương ứng trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch đối chiếu (a) (1 phần triệu ethylen oxyd và 50 phần triệu dioxan).

Kiểm tra độ tin cậy

Tính hiệu số của diện tích pic, theo từng cặp, cho bởi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (a), lần lượt ứng với ethylen oxyd và với dioxan. Thử nghiệm chỉ có hiệu lực nếu độ lệch chuẩn tương đối của ba giá trị khác biệt (3 hiệu số) ứng với ethylen oxyd không lớn hơn 15 % và độ lệch chuẩn tương đối của ba giá trị khác biệt (3 hiệu số) ứng với dioxan không lớn hơn 10 %.

Nếu lượng cân mẫu thử và chất đối chiếu nằm ngoài khoảng 0,995 g đến 1,005 g cần phải hiệu chỉnh kết quả cho thích hợp.

Hàm lượng ethylen oxyd tính theo phần triệu được tính bằng biểu thức:

$$A_T \times C / [(A_C \times M_T) - (A_T \times M_C)]$$

Trong đó:

A_T là diện tích pic tương ứng với ethylen oxyd trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch thử;

A_C là diện tích pic tương ứng với ethylen oxyd trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch đối chiếu (a);

M_T là khối lượng chất thử trong dung dịch thử tính theo gam;

M_C là khối lượng chất thử trong dung dịch đối chiếu (a) tính theo gam;

C là khối lượng ethylen oxyd cho vào dung dịch đối chiếu (a) tính theo microgam.

Và hàm lượng dioxan tính theo phần triệu được tính bằng biểu thức:

$$D_T \times C / [(D_C \times M_T) - (D_T \times M_C)]$$

Trong đó:

D_T là diện tích pic tương ứng với dioxan trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch thử;

D_C là diện tích pic tương ứng với dioxan trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch đối chiếu (a);

M_T là khối lượng chất thử trong dung dịch thử tính theo gam;

M_C là khối lượng chất thử trong dung dịch đối chiếu (a) tính theo gam;

C là khối lượng dioxan cho vào dung dịch đối chiếu (a) tính theo microgam.

10.16 ĐỊNH LƯỢNG N,N-DIMETHYLANILIN

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Phương pháp 1

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 50 mg *N,N*-diethylanilin (TT) trong 4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (TT), pha loãng bằng nước tới 50 ml. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được tới 100 ml bằng nước.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 30,0 ml nước, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội. Điều chỉnh nhiệt độ của dung dịch tới 26 °C đến 28 °C. Thêm 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 40 %* (TT). Lắc cho tan hoàn toàn. Thêm 2,0 ml *trimethylpentan* (TT). Lắc 2 phút, để yên cho tách lớp, dùng lớp trên.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50,0 mg *N,N*-dimethylanilin (TT) trong 4,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (TT), pha loãng bằng nước tới 50,0 ml. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được tới 100,0 ml bằng nước. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được tới 30,0 ml bằng nước, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội, 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 40 %* (TT), 2,0 ml *trimethylpentan* (TT). Lắc 2 phút, để yên cho tách lớp, dùng lớp trên.

Điều kiện sắc ký

Cột mao quản bằng silica nung chảy, dài 25 m, đường kính trong 0,32 mm, phủ lớp polymer liên kết mạng polymethylphenylsiloxan dày 0,52 µm.

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí*, tỷ lệ chia dòng 1 : 20, áp suất đầu cột 5 kPa, lưu lượng 20 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Bộ chia dòng (*split-liner*) là một cột dài khoảng 1 cm, nhồi diatomit dùng cho sắc ký khí tầm 10 % (kl/kl) polydimethylsiloxan.

Nhiệt độ: Duy trì nhiệt độ cột 150 °C trong 5 phút, sau đó tăng đến 275 °C với tốc độ 20 °C/min, rồi giữ ở 275 °C trong 3 phút. Nhiệt độ detector 300 °C, nhiệt độ buồng tiêm 220 °C.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Thời gian lưu của *N,N*-dimethylanilin khoảng 3,6 phút; của *N,N*-diethylanilin khoảng 5,0 phút.

Phương pháp 2

Dung dịch chuẩn nội: Dung dịch *naphtalen* (TT) 0,005 % trong *cyclohexan* (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm với 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M* (TT) trong ống thủy tinh có nút mài, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội. Đậy kín, lắc mạnh trong 1 phút. Ly tâm nếu cần, dùng lớp trên.

Dung dịch đối chiếu: Thêm 2 ml *acid hydrochloric đậm đặc (TT)* và 20 ml *nước* vào 50,0 mg *N,N-dimethylanilin (TT)*, lắc cho tan và pha loãng bằng *nước* tới 50,0 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này tới 250,0 ml bằng *nước*. Cho 1,0 ml dung dịch thu được vào ống thủy tinh có nút mài, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 1,0 ml dung dịch chuẩn nội. Đậy kín, lắc mạnh trong 1 phút, ly tâm nếu cần và dùng lớp trên.

Điều kiện sắc ký: Cột thủy tinh dài 2 m, đường kính trong 2 mm, được nhồi bằng diatomit silan hóa tẩm 3 % (kl/kl) polymethylphenylsiloxan.

Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký khí*, với lưu lượng 30 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Duy trì nhiệt độ cột ở 120 °C, nhiệt độ detector và buồng tiêm ở 150 °C.

Thể tích tiêm: 1 µl.

10.17 ĐỊNH LƯỢNG ACID 2-ETHYLHEXANOIC

Tiến hành phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 100 mg *acid 3-cyclohexyl propionic (TT)* trong *cyclohexan (TT)* và pha loãng vừa đủ 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Thêm 4,0 ml *dung dịch acid hydrochloric 33 % (tt/tt)* vào 0,300 g mẫu thử. Lắc mạnh 2 lần, mỗi lần trong 1 phút với 1,0 ml dung dịch chuẩn nội. Đợi tách lớp (nếu cần thiết, có thể ly tâm để tách lớp được tốt hơn), sử dụng dịch gộp của các lớp dịch chiết ở trên.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 75,0 mg *acid 2-ethylhexanoic (TT)* trong dung dịch chuẩn nội và pha loãng vừa đủ 50,0 ml với dung dịch chuẩn nội. Thêm 4,0 ml *dung dịch acid hydrochloric 33 % (tt/tt)* vào 1,0 ml dung dịch vừa pha. Lắc mạnh trong 1 phút. Đợi tách lớp (nếu cần thiết, có thể ly tâm để tách lớp được tốt hơn). Gạn lấy lớp dịch chiết ở trên. Tiếp tục thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội vào lớp dịch còn lại ở dưới và lắc mạnh trong 1 phút. Đợi tách lớp (nếu cần thiết, có thể ly tâm để tách lớp được tốt hơn), sử dụng dịch gộp của các lớp dịch chiết ở trên.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy có nòng rộng, chiều dài 10 m, đường kính trong 0,53 mm, phủ lớp pha tĩnh *macrogol 20 000 2-nitroterephthalat* (có bề dày 1,0 µm);

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*, với tốc độ dòng 10 ml/min;

Detector ion hóa ngọn lửa (FID);

Chương trình nhiệt độ như sau:

	Thời gian (phút)	Nhiệt độ (°C)	Tốc độ (°C/phút)	Ghi chú
Cột	0 – 2	40	-	Đẳng nhiệt
	2 – 7,3	40 → 200	30	Nhiệt độ tăng đều
	7,3 – 10,3	200	-	Đẳng nhiệt
Buồng tiêm		200		
Detector		300		

Thể tích tiêm: 1 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm 1 µl dung dịch thử và 1 µl dung dịch đối chiếu.

Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tương ứng với acid 2-ethylhexanoic (pic đầu tiên) và pic dung dịch chuẩn nội ít nhất là 2,0.

Hàm lượng phần trăm của acid 2-ethylhexanoic được tính theo công thức sau:

$$\frac{A_T \times I_C \times m_C \times 2}{A_C \times I_T \times m_T}$$

Trong đó:

A_T là diện tích pic tương ứng với acid 2-ethylhexanoic trên sắc ký đồ của dung dịch thử;

A_C là diện tích pic tương ứng với acid 2-ethylhexanoic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu;

I_T là diện tích pic tương ứng với chất chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch thử;

I_C là diện tích pic tương ứng với chất chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu;

m_T là lượng cân mẫu thử tính bằng gam;

m_C là lượng cân acid 2-ethylhexanoic trong dung dịch đối chiếu, tính bằng gam.

10.18 XÁC ĐỊNH ACID ACETIC TRONG PEPTID TỔNG HỢP

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động:

Pha động A: Hòa tan 0,7 ml *acid orthophosphoric (TT)* trong vừa đủ 1000 ml *nước*; điều chỉnh pH tới 3,0 với *dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT)*.

Pha động B: *Methanol dùng cho sắc ký lỏng (TT)*.

Dung dịch thử: Chuẩn bị như mô tả ở chuyên luận riêng.

Dung dịch đối chiếu: Pha dung dịch acid acetic 0,10 g/l từ *acid acetic băng (TT)*, sử dụng hỗn hợp 5 thể tích pha động B và 95 thể tích pha động A làm dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (250 mm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

Chương trình gradient dung môi như sau:

Thời gian (phút)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	95	5
5 - 10	95 $\rightarrow$ 50	5 $\rightarrow$ 50
10 - 20	50	50
20 - 22	50 $\rightarrow$ 95	50 $\rightarrow$ 5
22 - 30	95	5

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử.

Trong các sắc ký đồ thu được, pic tương ứng với acid acetic có thời gian lưu khoảng 3 phút đến 4 phút. Đường nền có thể cao dần do hiện tượng rửa giải peptid.

Xác định hàm lượng acid acetic trong peptid dựa vào diện tích pic acid acetic tương ứng trong sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

10.19 ĐỐT TRONG OXYGEN

Thiết bị

Nếu không có những qui định khác trong chuyên luận riêng, bình đốt là một bình nón bằng thủy tinh boro - silicat dung tích ít nhất là 500 ml, nút thủy tinh mài có gắn một bộ phận mang mẫu thích hợp bằng platin hoặc bằng platin - iridi.

Phương pháp

Nghiền nhỏ mẫu thử. Đặt một lượng mẫu theo qui định vào giữa một mảnh giấy lọc không tro, kích thước 40 mm $\times$ 30 mm, có một dải nhỏ kích thước 10 mm $\times$ 30 mm. Nếu giấy lọc được qui định tẩm bằng lithi carbonat thì làm ẩm vùng giữa giấy lọc bằng dung dịch bão hòa lithi carbonat (TT) rồi sấy khô ở 100 $^{\circ}$ C đến 105 $^{\circ}$ C trước khi dùng. Gói mẫu thử vào trong giấy và cài vào bộ phận mang mẫu.

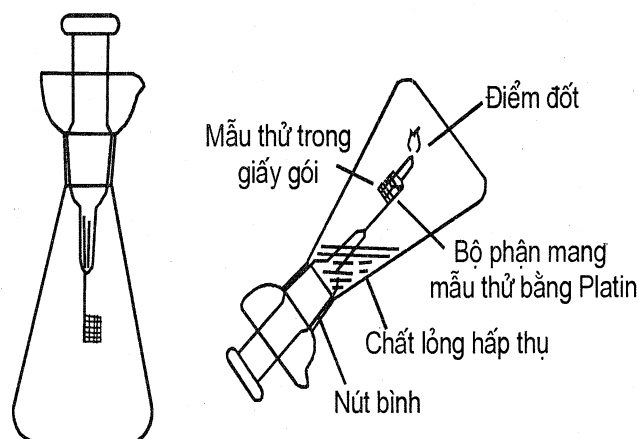
Thêm nước hoặc dung dịch hấp thụ như chỉ dẫn vào trong bình. Bơm khí oxygen vào bình qua một ống mà đầu cuối của nó đặt ở phía trên với khoảng cách vừa đủ so với mặt thoáng của chất lỏng hấp thụ. Làm ẩm cổ bình bằng nước. Nạp đầy khí oxygen vào bình. Đốt đầu tự do của dải giấy lọc hẹp bằng một dụng cụ thích hợp và cẩn thận đẩy ngay nút bình lại. Giữ chắc nút. Khi bắt đầu cháy mạnh, lật ngược bình để tạo ra một lớp ngăn cách bằng nước nhưng cần chú ý ngăn không cho những sản phẩm cháy chưa hoàn toàn rơi xuống chất lỏng. Ngay sau khi đốt cháy xong, lắc bình thật mạnh để hòa tan hoàn toàn những sản phẩm đốt. Làm lạnh. Nếu không có những chỉ dẫn khác, sau khoảng 5 phút, cẩn thận tháo nút ra. Rửa nút, dây, lưới platin và thành bình bằng nước rồi tiến hành tiếp như qui định trong chuyên luận riêng.

Đối với mẫu thử là chất lỏng, cho một lượng mẫu thử vào nang làm bằng methylcellulose có cỡ thích hợp đã có chứa sẵn khoảng 15 mg bột giấy lọc không tro. Đậy nắp nang, kẹp đầu cuối của dải giấy lọc hẹp vào giữa 2 phần thân và nắp. Buộc nang vào lưới platin. Đối với mẫu thử là thuốc mỡ, cần phải bọc trong tờ giấy không thấm mỡ trước khi bọc trong giấy lọc.

Áp dụng cho những chế phẩm chứa iod

Đốt một lượng qui định mẫu thử bằng phương pháp đã mô tả ở trên, sử dụng chất lỏng hấp thụ là hỗn hợp 10 ml nước và 2 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT). Khi quá trình đốt đã hoàn thành, thêm vào bình một lượng thừa dung dịch brom trong acid acetic (TT) (khoảng 5 ml đến 10 ml) và để yên trong 2 phút. Loại brom thừa bằng cách thêm acid formic (TT) (0,5 ml đến 1 ml). Rửa thành bình với nước cất. Đuổi hơi brom ở trên lớp chất lỏng bằng một luồng khí động. Thêm 1 g kali iodid (TT) và chuẩn độ bằng dung dịch natri thiosulfat 0,02 M (CĐ), dùng chỉ thị là dung dịch hồ tinh bột (TT) thêm vào lúc cuối của quá trình chuẩn độ.

1 ml dung dịch natri thiosulfat 0,02 M (CĐ) tương đương với 0,4230 mg iod.



Hình 10.19 - Dụng cụ đốt trong oxygen

PHỤ LỤC 11

11.1 GIỚI HẠN CHO PHÉP VỀ THỂ TÍCH, NỒNG ĐỘ, HÀM LƯỢNG THUỐC CỦA CÁC DẠNG BẢO CHẾ

Lượng hoạt chất có trong các chế phẩm bảo chế có liên quan đến các tiêu chí: Thể tích, nồng độ, hàm lượng thuốc...

Do thực tế sai số của các dụng cụ, trang thiết bị và việc thực hiện qui trình sản xuất mà mỗi dạng bào chế được phép có một khoảng chênh lệch nhất định về thể tích, nồng độ và hàm lượng so với qui định ghi trên nhãn. Đó là giới hạn cho phép về thể tích, nồng độ, hàm lượng thuốc.

Giới hạn cho phép về thể tích

Trừ thuốc tiêm đơn liều và các thuốc có qui định đặc biệt, các thuốc dạng lỏng có giới hạn cho phép về thể tích ghi trong Bảng 11.1.1.

Bảng 11.1.1. Giới hạn cho phép chênh lệch (%) về thể tích của các thuốc dạng lỏng

Loại thuốc	Thể tích ghi trên nhãn	Giới hạn cho phép
Thuốc tiêm đa liều, Thuốc tiêm truyền	Tới 50 ml	+ 10 %
	Trên 50 ml	+ 5 %
Thuốc dạng lỏng để uống (Dung dịch, Hỗn dịch, Nhũ dịch, Rượu)	Tới 20 ml	+ 10 %
	Trên 20 ml đến 50 ml	+ 8 %
	Trên 50 ml đến 150 ml	+ 6 %
	Trên 150 ml	+ 4 %
Sirô thuốc và Cao thuốc	Tới 100 ml	+ 10 %
	Trên 100 ml đến 250 ml	+ 8 %
	Trên 250 ml	+ 6 %
Thuốc nhỏ mắt, Thuốc nhỏ mũi, Thuốc nhỏ tai	Mọi thể tích	+ 10 %
Thuốc dùng ngoài	Mọi thể tích	+ 10 %

Cách thử

Lấy ngẫu nhiên 5 đơn vị chế phẩm (ống, lọ...), riêng thuốc tiêm truyền có thể tích trên 100 ml thì lấy 3 đơn vị để thử. Xác định thể tích từng đơn vị bằng bơm tiêm chuẩn hoặc ống đong chuẩn sạch, khô, có độ chính xác phù hợp. Thể tích mỗi đơn vị phải nằm trong khoảng từ thể tích ghi trên nhãn đến giới hạn cho phép. Nếu có một đơn vị không đạt phải tiến hành kiểm tra lần thứ hai giống như lần đầu. Chế phẩm đạt

yêu cầu nếu trong lần thử này không có đơn vị nào có thể tích nằm ngoài giới hạn cho phép.

Giới hạn cho phép về nồng độ, hàm lượng thuốc

Nếu không có qui định trong chuyên luận riêng, trừ vitamin và chất khoáng trong thuốc đa thành phần, các chế phẩm thuốc có giới hạn cho phép về nồng độ, hàm lượng ghi trong Bảng 11.1.2.

Bảng 11.1.2. Giới hạn cho phép về nồng độ, hàm lượng thuốc

Loại thuốc		Lượng hoạt chất ghi trên nhãn	Giới hạn cho phép (%)
Thuốc tiêm, Thuốc tiêm truyền	Dạng lỏng	Mọi hàm lượng	± 5 %
	Dạng bột	Mọi hàm lượng	± 10 %
Thuốc dạng lỏng để uống, Sirô thuốc, Cao thuốc		Mọi hàm lượng	± 10 %
Thuốc viên nén, Thuốc nang		Tới 50 mg Trên 50 mg đến 100 mg Trên 100 mg	± 10 % ± 7,5 % ± 5 %
Thuốc hoàn, Thuốc bột, Thuốc cốm, Thuốc đạn, Thuốc trứng, Thuốc dùng ngoài (Thuốc mỡ, Cao xoa ...)		Mọi hàm lượng	± 10 %

Cách thử

Xác định nồng độ, hàm lượng các hoạt chất trong chế phẩm theo qui định ở mục “Định lượng” ghi ở chuyên luận riêng.

Nếu không có qui định trong chuyên luận riêng, lượng chế phẩm đem thử được lấy từ một số lượng đơn vị chế phẩm qui định theo Phụ lục 11.3 đã được làm đồng đều.

Đối với chế phẩm thuốc có hàm lượng được biểu thị bằng nồng độ tính theo khối lượng trên thể tích (kl/tt), lượng chế phẩm đem thử được lấy từ một số lượng đơn vị chế phẩm qui định theo phần “Giới hạn cho phép về thể tích” đã được làm đồng đều.

11.2 PHÉP THỬ ĐỘ ĐỒNG ĐỀU HÀM LƯỢNG

Phép thử độ đồng đều hàm lượng của các chế phẩm đơn liều dựa trên cơ sở định lượng hàm lượng hoạt chất của từng đơn vị, để xác định mỗi hàm lượng riêng lẻ có nằm trong giới hạn cho phép so với hàm lượng trung bình hay không.

Phép thử này không áp dụng cho chế phẩm đa liều, thuốc truyền tĩnh mạch không phân liều, chế phẩm chứa vitamin, nguyên tố vi lượng và các trường hợp khác được phép miễn trừ.

Trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, phép thử độ đồng đều hàm lượng được tiến hành trên 10 đơn vị riêng lẻ lấy ngẫu nhiên. Kết quả được đánh giá theo phương pháp sau:

Phương pháp 1

Áp dụng cho thuốc nang, thuốc bột không dùng pha tiêm, thuốc cốm, thuốc đạn, thuốc trướng.

Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 85 % đến 115 % và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

Chế phẩm không đạt yêu cầu phép thử, nếu có quá ba đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 85 % đến 115 %, hoặc có một hay nhiều đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

Nếu hai hoặc ba đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 85 % đến 115 %, nhưng ở trong giới hạn từ 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình, thử lại trên 20 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá ba trong tổng số 30 đơn vị đem thử có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 85 % đến 115 % và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

Phương pháp 2

Áp dụng cho thuốc viên nén, thuốc bột pha tiêm, hỗn dịch để tiêm.

Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu hàm lượng của từng đơn vị nằm trong giới hạn từ 85 % đến 115 % của hàm lượng trung bình.

Chế phẩm không đạt yêu cầu phép thử, nếu có quá một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 85 % đến 115 %, hoặc có một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

Nếu có một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 85 % đến 115 % của hàm lượng trung bình, thử lại trên 20 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá một trong tổng số 30 đơn vị đem thử có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 85 % đến 115 % và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

Phương pháp 3

Áp dụng cho thuốc dán (hấp thu qua da)

Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu hàm lượng trung bình của 10 đơn vị nằm trong giới hạn từ 90 % đến

110 % hàm lượng ghi trên nhãn và hàm lượng của từng đơn vị phải nằm trong giới hạn từ 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

11.3 PHÉP THỬ ĐỘ ĐỒNG ĐỀU KHỐI LƯỢNG

Phép thử độ đồng đều khối lượng dùng để xác định độ đồng đều phân liều của chế phẩm, khi không có yêu cầu thử độ đồng đều hàm lượng.

Phương pháp thử

Phương pháp 1

Áp dụng cho thuốc viên nén, thuốc đạn, thuốc trướng, thuốc dán

Cân riêng biệt 20 đơn vị lấy ngẫu nhiên, tính khối lượng trung bình. Không được có quá hai đơn vị có khối lượng nằm ngoài giới hạn chênh lệch so với khối lượng trung bình quy định trong Bảng 11.3.1 và không được có đơn vị nào có khối lượng vượt gấp đôi giới hạn đó.

Phương pháp 2

Áp dụng cho thuốc nang, thuốc bột (đơn liều), thuốc cốm (không bao, đơn liều)

Cân khối lượng của một nang hay một gói (thuốc bột, thuốc cốm). Với viên nang cứng, tháo rời hai nửa vỏ nang, dùng bông lau sạch vỏ và cân khối lượng của vỏ. Với viên nang mềm, cắt mở nang, bóp hết thuốc ra, dùng ether hoặc dung môi hữu cơ thích hợp rửa vỏ nang, để khô tự nhiên cho đến khi hết mùi dung môi, cân khối lượng của vỏ nang. Với gói, cắt mở gói, lấy hết thuốc ra, dùng bông lau sạch bột thuốc bám ở mặt trong, cân khối lượng vỏ gói. Khối lượng thuốc trong nang hay gói là hiệu số giữa khối lượng nang thuốc hay gói và khối lượng vỏ nang hay vỏ gói. Tiến hành tương tự với 19 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Tính khối lượng trung bình của thuốc trong nang hay gói. Kết quả được đánh giá dựa vào Bảng 11.3.1 giống như Phương pháp 1.

Phương pháp 3

Áp dụng cho thuốc bột để pha tiêm.

Loại bỏ hết nhãn, rửa sạch và làm khô bên ngoài. Loại bỏ hết các nút nếu có, cân ngay khối lượng cả vỏ và thuốc. Lấy hết thuốc ra, dùng bông lau sạch, nếu cần rửa với nước, sau đó với ethanol 96 % (TT), sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 1 giờ. Nếu vỏ không chịu được nhiệt độ này, làm khô ở nhiệt độ thích hợp tới khối lượng không đổi, để nguội trong bình hút ẩm và cân. Hiệu số giữa hai lần cân là khối lượng của thuốc. Tiến hành tương tự với 19 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Tính khối lượng trung bình của thuốc. Kết quả được đánh giá dựa vào Bảng 11.3.1 giống như Phương pháp 1.

Bảng 11.3.1 - Bảng quy định độ đồng đều khối lượng cho chế phẩm đơn liều

Dạng bào chế	Khối lượng trung bình (KLTB)	% chênh lệch so với KLTB
Viên nén Viên bao phim	Nhỏ hơn hoặc bằng 80 mg	10
	Lớn hơn 80 mg và nhỏ hơn 250 mg	7,5
	Bằng hoặc lớn hơn 250 mg	5
Thuốc nang; Thuốc bột (đơn liều); Thuốc cốm (không bao, đơn liều)	Nhỏ hơn 300 mg	10
	Bằng hoặc lớn hơn 300 mg	7,5
Thuốc bột để pha tiêm (đơn liều)	Lớn hơn 40 mg	10
Viên nén bao đường	Tất cả các loại	10
Thuốc đạn Thuốc trứng Cao dán	Tất cả các loại	5

* Đối với thuốc bột để pha tiêm, khi khối lượng trung bình bằng hay nhỏ hơn 40 mg, chế phẩm không phải thử độ đồng đều khối lượng, nhưng phải thử độ đồng đều hàm lượng.

Phương pháp 4

Áp dụng cho thuốc bột (đa liều), thuốc cốm (đa liều), thuốc mỡ, cao xoa, cao động vật.

Cân khối lượng của một đơn vị đóng gói nhỏ nhất. Mở đồ chứa (gói, hộp, lọ...), lấy hết thuốc ra, cắt mở đồ chứa nếu cần để dễ dàng dùng bông lau sạch thuốc bám ở mặt trong, cân khối lượng của đồ chứa. Hiệu số giữa hai lần cân là khối lượng của thuốc. Tiến hành tương tự với bốn đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Tất cả các đơn vị phải có khối lượng nằm trong giới hạn chênh lệch so với khối lượng ghi trên nhãn quy định trong Bảng 11.3.2. Nếu có một đơn vị có khối lượng nằm ngoài giới hạn đó, tiến hành thử lại với năm đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Không được có quá một đơn vị trong tổng số 10 đơn vị đem thử có khối lượng nằm ngoài giới hạn qui định.

Bảng 11.3.2 - Bảng quy định độ đồng đều khối lượng cho chế phẩm đa liều

Dạng bào chế	Khối lượng ghi trên nhãn (KLN)	% chênh lệch so với KLN
Thuốc bột (đa liều)	Nhỏ hơn hoặc bằng 0,50 g	10
	Lớn hơn 0,50 g và bằng 1,50 g	7
	Lớn hơn 1,50 g và bằng 6,00 g	5
	Lớn hơn 6,00 g	3
Thuốc cốm (đa liều)	Tất cả các loại	5
Thuốc kem, mỡ, bột nhão, gel Cao xoa	Nhỏ hơn hoặc bằng 10,0 g	15
	Lớn hơn 10,0 g và bằng 20,0 g	10
	Lớn hơn 20,0 g và bằng 50,0 g	8
	Lớn hơn 50,0	5
Cao động vật	Nhỏ hơn hoặc bằng 100,0 g	5
	Lớn hơn 100,0 g và bằng 200,0 g	3
	Lớn hơn 200,0 g	2

11.4 PHÉP THỬ ĐỘ HÒA TAN CỦA VIÊN NÉN VÀ NANG

Phép thử này xác định tỷ lệ hòa tan hoạt chất của các dạng thuốc rắn phân liều (viên nén và nang) trong những điều kiện chỉ định.

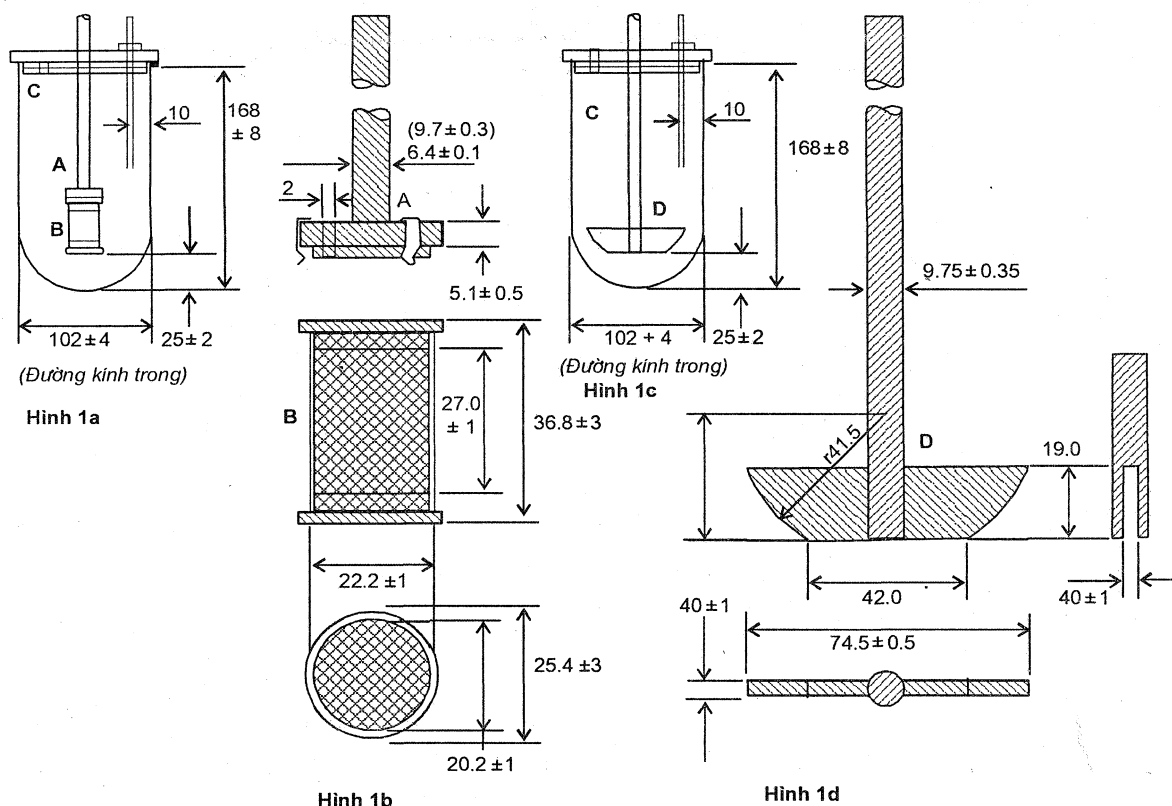
Việc chọn thiết bị thử dựa vào các tính chất hóa lý của dạng bào chế. Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, sử dụng thiết bị kiểu giỏ quay. Tất cả các bộ phận của thiết bị có thể tiếp xúc với chế phẩm thử hoặc môi trường hòa tan phải trơn về mặt hóa học và không được hấp thụ, không phản ứng hoặc gây ảnh hưởng tới chế phẩm thử. Tất cả các bộ phận kim loại của thiết bị có thể tiếp xúc với chế phẩm hoặc môi trường hòa tan phải được làm bằng thép không gỉ thích hợp, hoặc được phủ bằng vật liệu thích hợp, để không phản ứng hay gây trở ngại cho chế phẩm thử hoặc môi trường hòa tan.

Ngoài bộ phận quay hay hệ thống cùng chảy qua, không một bộ phận nào của thiết bị, kể cả môi trường đặt thiết bị, được phép gây ra chuyển động, dao động hoặc rung động đáng kể.

Nên dùng loại thiết bị quan sát được chế phẩm thử và bộ phận khuấy trong suốt quá trình thử.

Môi trường hòa tan được chỉ dẫn trong chuyên luận riêng. Nếu là dung dịch đệm, điều chỉnh sao cho pH không lệch quá 0,05 so với pH được chỉ định trong chuyên luận riêng. Môi trường hòa tan được loại khí trước khi thử.

Kích thước và dung sai của các thiết bị được mô tả trong các Hình 11.4.1 (a - d) và 11.4.2 (a - c).



Hình 11.4.1(a - d) - Thiết bị thử độ hòa tan của viên nén và nang (kiểu giò quay và kiểu cánh khuấy).
Kích thước tính bằng mm

Thiết bị kiểu giò quay

(a) Bình hình trụ C bằng thủy tinh borosilicat hoặc chất liệu trong suốt khác thích hợp, đáy hình bán cầu, dung tích 1000 ml (Hình 11.4.1a). Miệng bình có viền rộng, được đậy bằng nắp có vài lỗ với một lỗ nằm ở chính giữa.

(b) Động cơ với thiết bị điều tốc có khả năng duy trì tốc độ quay của giò trong phạm vi $\pm 4\%$ so với tốc độ chỉ định trong chuyên luận riêng. Động cơ gắn với bộ phận khuấy bao gồm trục quay A và giò hình trụ B (Hình 11.4.1b). Trục kim loại phải quay nhẹ nhàng, không tắc lư. Giò bao gồm hai phần. Phần nắp có một lỗ thoát nhỏ, gắn được với trục quay. Nắp có ba kẹp đàn hồi, hay bằng cách thích hợp khác, cho phép tháo phần dưới ra để cho chế phẩm thử vào và giữ chắc nó đồng trục với trục của bình trong khi quay. Phần dưới có thể tháo ra là giò hình trụ, được làm bằng lưới kim loại với đường kính sợi 0,254 mm và mắt lưới vuông cạnh 0,381 mm, miệng và đáy giò có vòng kim loại viền quanh. Để sử dụng trong môi trường acid, giò có thể được mạ lớp vàng 2,5 μm . Trong quá trình thử, khoảng cách từ giò đến đáy bình được giữ trong khoảng 23 mm đến 27 mm.

(c) Thiết bị cách thủy để duy trì môi trường hòa tan ở 36,5 °C đến 37,5 °C.

Thiết bị kiểu cánh khuấy

Sử dụng thiết bị như đã mô tả ở trên, ngoại trừ trong bộ phận khuấy, giò được thay bằng cánh khuấy D (Hình 11.4.1c và 11.4.1d). Cánh khuấy được xoay chặt khít với trục quay. Lắp đặt trục quay không lệch quá 2 mm so với trục của bình và mép dưới của cánh khuấy cách đáy bình từ 23 mm đến 27 mm. Thiết bị vận hành sao cho cánh khuấy quay nhẹ nhàng, không tắc lư.

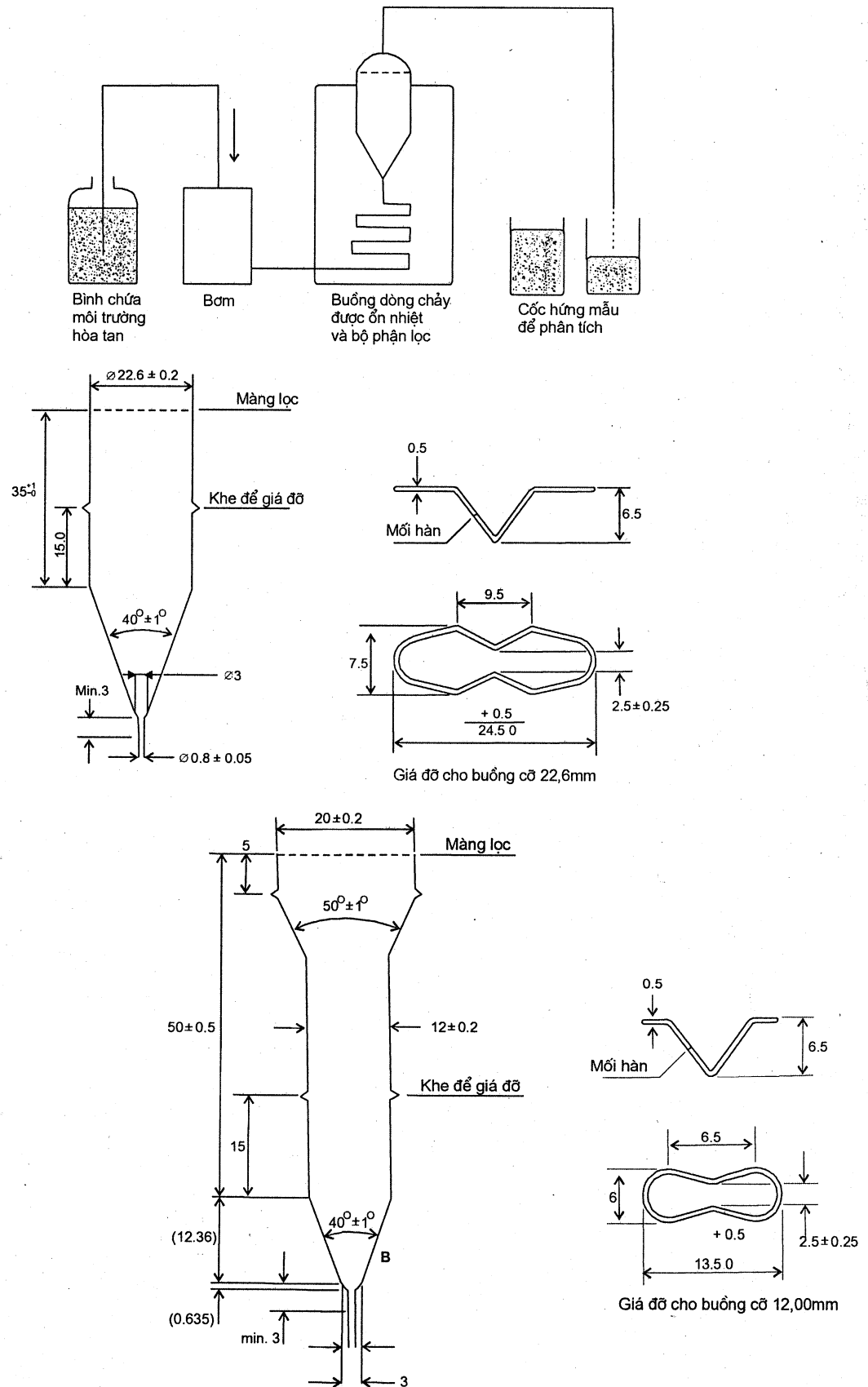
Thiết bị kiểu buồng dòng chảy qua

Bình chứa môi trường hòa tan (Hình 11.4.2a).

Bơm đẩy môi trường hòa tan từ dưới lên qua buồng dòng chảy (Hình 11.4.2a).

Buồng dòng chảy bằng vật liệu trong suốt, lắp thẳng đứng với hệ thống lọc ngăn các tiểu phân không hòa tan (Hình 11.4.2b và 11.4.2c).

Thiết bị cách thủy để duy trì môi trường hòa tan ở 36,5 °C đến 37,5 °C.



Hình 11.4.2 (a - c): Thiết bị thử độ hòa tan của viên nén và nang (kiểu buồng dòng chảy).
Kích thước tính bằng mm

Phương pháp thử

Cho một thể tích quy định môi trường hòa tan đã đun khí vào bình, làm ấm đến nhiệt độ 36,5 °C đến 37,5 °C. Nếu không có chỉ dẫn khác, dùng một viên nén hay nang.

Khi sử dụng thiết bị kiểu giỏ quay, cho viên nén hay nang vào giỏ khô, hạ giỏ xuống đúng vị trí trước khi quay. Trong trường hợp dùng thiết bị kiểu cánh khuấy, cho viên nén hay nang chìm xuống đáy bình trước khi quay cánh khuấy. Có thể dùng dây xoắn kim loại hay thủy tinh giữ viên thuốc nằm dưới đáy bình. Chú ý loại bột khí khỏi bề mặt viên. Cho thiết bị vận hành ngay lập tức với tốc độ quay được chỉ dẫn trong chuyên luận riêng. Nếu dùng thiết bị kiểu dòng chảy, cho vài viên bị thủy tinh đường kính 0,9 mm đến 1,1 mm và một viên đường kính 4,5 mm đến 5,5 mm vào đáy hình nón để bảo vệ miệng ống dẫn dòng chảy vào buồng. Đặt viên nén hay nang vào trong hoặc trên lớp bị thủy tinh, hay dùng bộ phận giữ. Lắp đầu lọc và gắn các phần với nhau bằng khóa kẹp thích hợp. Làm ấm môi trường hòa tan từ 36,5 °C đến 37,5 °C và dùng bơm thích hợp đẩy qua đáy buồng để tạo dòng chảy liên tục với tốc độ quy định ($\pm 5\%$).

Lấy mẫu thử sau 45 phút, hoặc sau các khoảng thời gian đã chỉ định, hay lấy mẫu liên tục. Lấy mẫu tại vị trí nằm giữa bề mặt môi trường hòa tan và nắp giỏ hay cạnh trên của cánh khuấy, cách thành bình ít nhất 10 mm, hoặc từ môi trường chảy liên tục sau buồng dòng chảy qua. Ngoại trừ trường hợp dòng liên tục với thiết bị kiểu giỏ quay hay cánh khuấy (khi lượng chất lỏng lấy ra quay trở lại bình thử) và lấy mẫu một lần, phải thêm một thể tích môi trường hòa tan bằng thể tích mẫu thử đã lấy hoặc dùng phép tính hiệu chỉnh. Lọc mẫu ở 36,5 °C đến 37,5 °C và xác định lượng hoạt chất được hòa tan bằng phương pháp chỉ dẫn trong chuyên luận riêng. Thiết bị (giấy) lọc phải trợ, hấp thụ không đáng kể hoạt chất trong mẫu, không chứa các chất có thể bị chiết ra bởi môi trường hòa tan gây trở ngại cho qui trình phân tích đã chỉ dẫn, và có cỡ lỗ xốp thích hợp.

Lắp lại toàn bộ thử nghiệm trên với năm viên khác. Khi chỉ định dùng một viên cho vào thiết bị thử, nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, lượng hoạt chất được hòa tan của mỗi viên trong số sáu viên đem thử không được ít hơn 70 % lượng hoạt chất ghi trên nhãn. Nếu có một viên không đạt yêu cầu, thử lại với sáu viên khác và tất cả đều phải đạt.

Khi chỉ định dùng hai hay nhiều viên hơn cho vào thiết bị thử, tiến hành thử sáu lần liên tiếp. Trong mỗi lần thử, nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, lượng hoạt chất được hòa tan tính theo mỗi viên không được ít hơn 70 % lượng hoạt chất ghi trên nhãn. Không được phép thử lại.

Nếu vỏ nang cản trở việc phân tích, lấy sạch bột thuốc của ít nhất sáu nang và hòa tan vỏ nang rỗng trong thể tích môi trường hòa tan đã qui định. Tiến hành thử

như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng. Hệ số hiệu chỉnh không được lớn hơn 25 % hàm lượng ghi trên nhãn.

11.5 PHÉP THỬ ĐỘ RÃ CỦA THUỐC ĐẠN VÀ THUỐC TRỨNG

Phép thử này xác định thuốc đạn và thuốc trứng có rã hoặc mềm đi hay không trong khoảng thời gian qui định, khi được đặt trong môi trường lỏng ở những điều kiện thử nghiệm chỉ định.

Thiết bị

a) Ống trong suốt bằng thủy tinh hay chất dẻo, cao 60 mm với đường kính bên trong 52 mm, thành dày thích hợp (Hình 11.5.1).

b) Bộ phận kim loại gồm hai đĩa kim loại không gỉ, mỗi đĩa có 39 lỗ tròn đường kính 4 mm và được phân bố như chỉ dẫn trong Hình 11.5.1. Đường kính của đĩa gần tương đương với đường kính bên trong của ống bao. Hai đĩa cách nhau khoảng 30 mm. Bộ phận kim loại được treo bằng ba móc kẹp cách đều nhau, gắn vào thành ngoài ống bao như chỉ dẫn trong Hình 11.5.1.

Khi thử độ rã của viên nén đặt âm đạo, bộ phận kim loại được gắn ở dưới với đầu móc kẹp hướng lên trên như mô tả trong Hình 11.5.2.

Cách thử**Thuốc đạn**

Đặt một viên lên đĩa dưới của bộ phận kim loại, đưa bộ phận này vào ống bao và gắn chặt vào thành ống. Nếu không có chỉ dẫn khác, đặt thiết bị thử vào một bồn chứa ít nhất 4 lít nước ấm (36 °C đến 37 °C) có gắn dụng cụ khuấy chậm và giữ thiết bị thử ở vị trí thẳng đứng, ngập 90 mm so với mặt nước. Xoay, ngược thiết bị thử 10 phút một lần, tránh không để nhô lên khỏi mặt nước.

Lắp lại toàn bộ thử nghiệm với hai viên khác.

Thuốc được coi là rã, khi đáp ứng một trong những yêu cầu sau:

a) Tan hoàn toàn.

b) Phân tách ra các thành phần tạo thành, rồi tập trung trên bề mặt (các chất mỡ nóng chảy), chìm xuống đáy (bột không tan) hay hòa tan trong nước (các thành phần hòa tan), hoặc có thể phân tán theo một hay vài cách nêu trên.

c) Trở nên mềm, có thể biến dạng đáng kể, không nhất thiết bị phân tách hoàn toàn ra các thành phần tạo thành, nhưng không có nhân rắn chịu được sức ép của đầu thủy tinh.

Nếu không có quy định khác trong chuyên luận riêng, thời gian rã không quá 30 phút đối với các thuốc đạn có tá dược thân mỡ và không quá 60 phút đối với thuốc đạn tan trong nước.

Nang đặt trực tràng

Tiến hành như mô tả trong phần Thuốc đạn. Thuốc được coi là rã, khi vỏ gelatin vỡ ra, giải phóng các chất chứa bên trong.

Thời gian rã không được quá 30 phút.

Thuốc trứng

Tiến hành và đánh giá như mô tả trong phần Thuốc đạn. Nếu không có quy định khác trong chuyên luận riêng, thời gian rã không quá 60 phút.

Nang đặt âm đạo

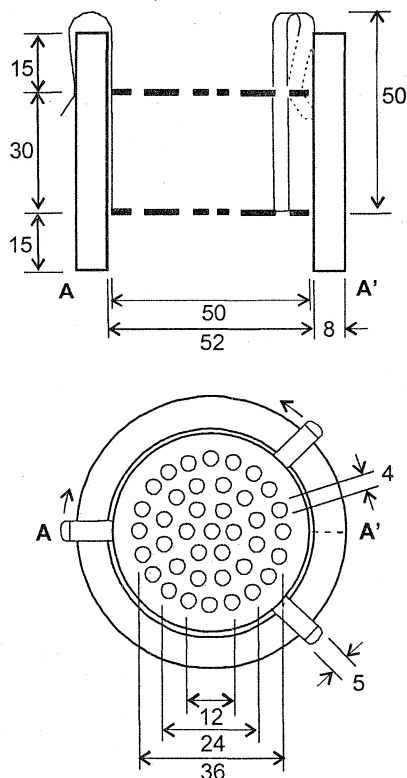
Tiến hành như mô tả trong phần Thuốc đạn và đánh giá như mô tả trong phần Nang đặt trực tràng.

Viên nén đặt âm đạo

Đặt thiết bị thử vào bồn có đường kính phù hợp, chứa nước ấm (36 °C đến 37 °C). Thêm dần nước ấm (36 °C đến 37 °C) cho đến khi mặt lỗ của đĩa kim loại vừa được phủ bằng một lớp nước. Đặt viên thuốc lên đĩa trên và đẩy thiết bị bằng tấm kính để giữ các điều kiện ẩm thích hợp. Lặp lại toàn bộ thử nghiệm với hai viên khác.

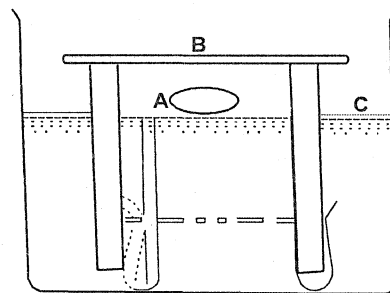
Thuốc được coi là rã, khi đáp ứng một trong những yêu cầu sau:

- Không còn cặn trên đĩa.
 - Nếu cặn vẫn còn, đây chỉ là khối mềm hay rỗng xốp, không có nhân rắn chịu được sức ép của đĩa thủy tinh.
- Nếu không có quy định khác trong chuyên luận riêng, thời gian rã không quá 30 phút.



Hình 11.5.1 - Thiết bị thử độ rã của thuốc đạn và thuốc trứng.

Kích thước tính bằng mm



A - Viên nén đặt âm đạo; B - Tấm kính; C - Mặt nước.

Hình 11.5.2 - Thiết bị thử độ rã của viên nén đặt âm đạo.

11.6 PHÉP THỬ ĐỘ RÃ CỦA VIÊN NÉN VÀ NANG

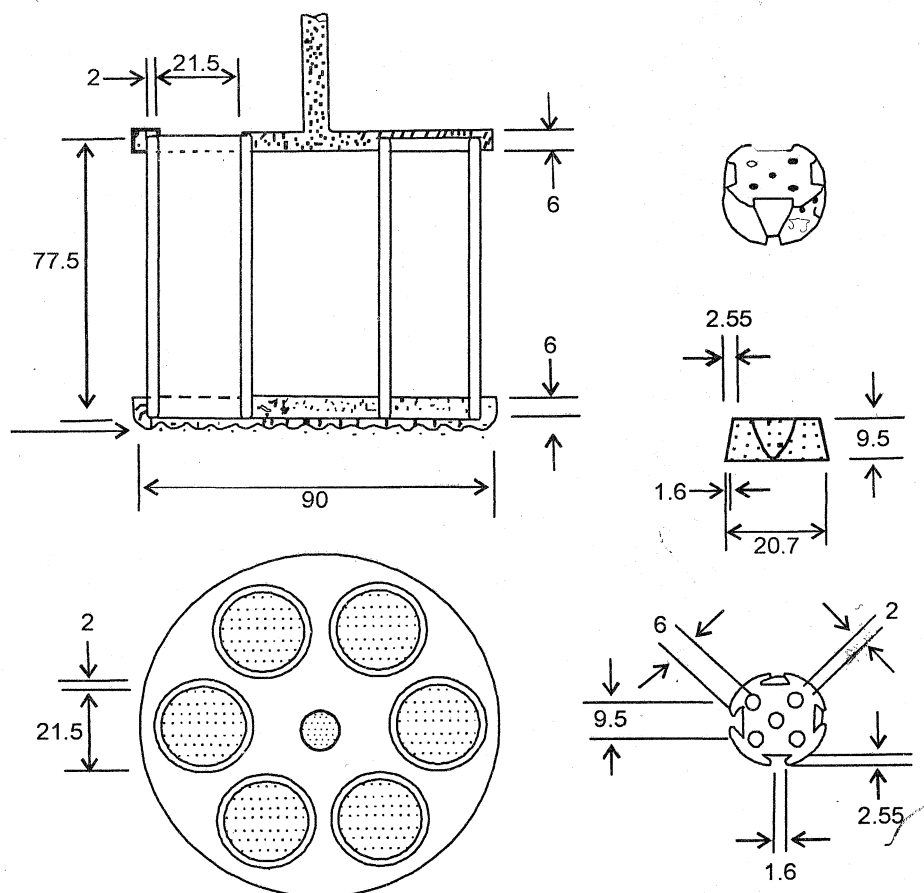
Phép thử này xác định viên nén hay nang có rã hay không trong khoảng thời gian quy định, khi được đặt trong môi trường lỏng ở những điều kiện thử nghiệm chỉ định.

Thuốc được coi là rã, khi đáp ứng một trong những yêu cầu sau:

- Không còn cặn trên mặt lưới.
- Nếu còn cặn, đây là khối mềm không có màng nhận thấy rõ, không có nhân khô.
- Chỉ còn những mảnh vỏ bao của viên nén hoặc vỏ nang trên mặt lưới. Nếu sử dụng đĩa (trong trường hợp cho nang), các mảnh vỏ nang có thể dính vào mặt dưới của đĩa.

Thiết bị

- Bộ giá chắc chắn đỡ 6 ống thủy tinh hình trụ dài 75,0 mm đến 80,0 mm, đường kính trong 21,5 mm và thành ống dày khoảng 2 mm (Hình 11.6).
- Đĩa hình trụ cho mỗi ống, đường kính 20,55 mm đến 20,85 mm và dày 9,35 mm đến 9,65 mm, được làm bằng chất dẻo trong suốt có tỷ trọng 1,18 đến 1,20. Đĩa có 5 lỗ đường kính 2 mm, 1 lỗ ở chính giữa, 4 lỗ còn lại nằm cách đều nhau trên vòng tròn bán kính 6 mm tính từ tâm. Có 4 rãnh cách đều nhau trên thành đĩa, ở mặt trên rãnh rộng 9,5 mm và sâu 2,55 mm, còn ở mặt dưới là một hình vuông cạnh 1,6 mm.
- Các ống được giữ thẳng đứng giữa 2 đĩa nhựa trong suốt đường kính 90 mm và dày 6 mm, mỗi đĩa được khoét 6 lỗ. Các lỗ cách đều nhau và cách đều tâm. Mặt dưới của đĩa nhựa phía dưới được gắn tấm lưới đan bằng thép sợi không gỉ đường kính 0,635 mm, có mắt lưới kích thước 2,00 mm.
- Hai đĩa nhựa được cố định cách nhau 77,5 mm bằng các thanh kim loại (hay nhựa cứng) chốt thẳng đứng ở ngoại biên. Một thanh kim loại được gắn chặt vào tâm đĩa nhựa phía trên, sao cho giá đỡ ống thử lắp



Hình 11.6 - Thiết bị xác định độ rã của viên nén và nang
Kích thước tính bằng mm

ráp được với bộ phận cơ có khả năng vận hành giá đỡ chuyển động lên xuống nhẹ nhàng một khoảng 50 mm đến 60 mm với tần số cố định 28 lần trong phút đến 32 lần trong phút.

e) Giá đỡ ống thử được treo trong một bình thích hợp, thường là cốc thủy tinh dung tích 1000 ml chứa chất lỏng chỉ dẫn. Thể tích chất lỏng phải đủ, để khi giá đỡ ống thử ở vị trí cao nhất, lưới kim loại phải ngập sâu ít nhất 15 mm so với bề mặt chất lỏng, còn khi ở vị trí thấp nhất, lưới kim loại phải cách đáy cốc ít nhất 25 mm và miệng các ống thử vẫn ở trên bề mặt chất lỏng.

f) Thiết bị phù hợp để duy trì nhiệt độ chất lỏng ở 36 °C đến 38 °C.

Thiết kế của giá đỡ ống thử có thể thay đổi, nhưng tiêu chuẩn của ống thủy tinh và lưới kim loại phải đúng quy định.

Phương pháp thử

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, cho vào mỗi ống thử một viên nén hoặc nang. Nếu có chỉ dẫn trong chuyên luận chung tương ứng, cho một đĩa vào mỗi ống. Treo giá đỡ ống thử trong cốc có chứa chất lỏng chỉ dẫn và vận hành thiết bị theo thời

gian quy định. Lấy giá đỡ ống thử ra khỏi chất lỏng. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu tất cả sáu viên đều rã.

11.7 PHÉP THỬ ĐỘ RÃ CỦA VIÊN BAO TAN TRONG RUỘT

Thiết bị

Sử dụng thiết bị mô tả trong Phụ lục 11.6. Phép thử độ rã của viên nén và nang.

Phương pháp thử

Cho một viên vào mỗi ống thử, không dùng đĩa, treo giá đỡ ống thử trong cốc chứa dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (TT), nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, vận hành thiết bị trong 120 phút. Lấy giá đỡ ống thử ra khỏi chất lỏng. Trừ các mảnh vỏ bao, không một viên nào bị rã hay có dấu hiệu bị rạn nứt khiến hoạt chất bị hoà tan.

Thay chất lỏng trong cốc bằng dung dịch đệm phosphat pH 6,8 (TT), cho đĩa vào ống và vận hành thiết bị trong 60 phút. Lấy giá đỡ ống thử ra khỏi chất lỏng. Nếu mẫu thử không đạt yêu cầu do viên bị dính vào đĩa, lặp lại phép thử với 6 viên khác và không dùng đĩa. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu tất cả sáu viên đều rã.

11.8 XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN TIÊU PHÂN

A. Xác định giới hạn tiêu phân không nhìn thấy bằng mắt thường

Tiêu phân trong thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền là các hạt nhỏ không hòa tan, linh động, không phải là bọt khí, có nguồn gốc ngẫu nhiên từ bên ngoài.

Để xác định giới hạn tiêu phân có hai phương pháp mô tả dưới đây, Phương pháp 1 (dùng thiết bị đếm tiêu phân) và Phương pháp 2 (dùng kính hiển vi). Khi kiểm tra tiêu phân không nhìn thấy bằng mắt thường của thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền, thường áp dụng Phương pháp 1. Tuy nhiên, đối với một số chế phẩm, phải áp dụng cả hai phương pháp để đánh giá.

Không phải tất cả các thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền đều có thể kiểm tra được giới hạn tiêu phân không nhìn thấy bằng mắt thường bằng một trong hai phương pháp, hay cả hai phương pháp. Các chế phẩm không thật trong, hay có độ nhớt tăng cao, hoặc tạo bọt khí khi đổ vào thiết bị đếm tiêu phân, tiến hành thử theo Phương pháp 2. Nếu độ nhớt của chế phẩm quá cao, cản trở phương pháp kiểm tra, pha loãng với dung môi thích hợp để có thể tiến hành được thử nghiệm.

Kết quả kiểm tra một đơn vị riêng lẻ hay nhóm các đơn vị chế phẩm không có giá trị đương nhiên đối với các đơn vị không được kiểm tra. Bởi vậy, cần xây dựng kế hoạch lấy mẫu đủ số lượng thống kê, để từ kết quả kiểm tra có thể đánh giá được giới hạn tiêu phân của cả nhóm lớn các đơn vị chế phẩm.

Phương pháp 1: Dùng thiết bị đếm tiêu phân

Quy định chung

Tiến hành thử nghiệm trong các điều kiện hạn chế được nhiễm tiêu phân, tốt nhất là trong tủ lọc khí vô khuẩn.

Rửa thật cẩn thận dụng cụ thủy tinh và dụng cụ lọc (trừ màng lọc) bằng dung dịch tẩy rửa ẩm, tráng lại bằng nước cho sạch hết chất tẩy. Ngay trước khi dùng, tráng lại các dụng cụ từ trên xuống dưới, bên ngoài, sau đó là bên trong với *nước không có tiêu phân (TT)*.

Tránh tạo bọt khí trong chế phẩm đem thử, đặc biệt là khi rót vào dụng cụ để tiến hành đếm tiêu phân.

Để kiểm tra môi trường có thích hợp cho thử nghiệm, dụng cụ thủy tinh có đủ sạch và nước sử dụng có hết tiêu phân hay không, tiến hành phép thử sau:

Kiểm tra giới hạn tiêu phân của 5 mẫu *nước không có tiêu phân (TT)*, mỗi mẫu 5 ml, theo phương pháp mô tả ở dưới. Nếu trong cả 25 ml nước thử có trên 25 tiêu phân kích thước bằng 10 µm hay lớn hơn, phải tiến hành lại các bước chuẩn bị cho đến khi môi trường, dụng cụ thủy tinh và nước thích hợp cho thử nghiệm.

Dụng cụ

Sử dụng thiết bị thích hợp hoạt động theo nguyên tắc cản ánh sáng, cho phép tự động xác định kích thước tiêu phân và số lượng tiêu phân theo kích thước đã chọn.

Chuẩn hóa thiết bị bằng các hạt cầu chuẩn kích thước 10 µm đến 25 µm. Phân tán hạt chuẩn trong *nước không có tiêu phân (TT)*. Tránh kết tụ tiêu phân trong quá trình phân tán.

Cách tiến hành

Trộn đều chế phẩm bằng cách lộn đi, lộn lại nhẹ nhàng dụng cụ chứa (đồ đựng) 20 lần liên tiếp. Nếu cần, tháo bỏ phần bảo vệ ngoài nắp đáy. Dùng tia *nước không có tiêu phân (TT)* rửa bề mặt nắp và cổ dụng cụ chứa (đồ đựng), mở nắp cẩn thận, tránh nhiễm tiêu phân từ bên ngoài. Loại bọt khí bằng cách để yên 2 phút hoặc siêu âm.

Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích từ 25 ml trở lên, tiến hành thử với từng đơn vị. Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích nhỏ hơn 25 ml, gộp dung dịch của ít nhất 10 đơn vị trong một cốc sạch cho đủ 25 ml. Khi có chỉ dẫn đặc biệt, lấy dung dịch từ một số đơn vị thích hợp, pha loãng thành 25 ml với *nước không có tiêu phân (TT)* hoặc với dung môi thích hợp không có tiêu phân, khi *nước không có tiêu phân (TT)* không thích hợp.

Thuốc bột để pha tiêm được hòa tan trong *nước không có tiêu phân (TT)* hoặc dung môi thích hợp không có tiêu phân, khi *nước không có tiêu phân (TT)* không thích hợp.

Số mẫu thử phải đủ lượng thống kê. Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích từ 25 ml trở lên, số mẫu thử có thể nhỏ hơn 10, phụ thuộc vào kế hoạch lấy mẫu đã đề ra.

Lấy 4 mẫu thử, mỗi mẫu không dưới 5 ml, đưa vào máy đếm tiêu phân theo kích thước bằng 10 µm hay lớn hơn và bằng 25 µm hay lớn hơn.

Loại bỏ kết quả của mẫu đầu tiên. Tính số lượng tiêu phân trung bình của chế phẩm đã thử.

Đánh giá kết quả

Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích lớn hơn 100 ml: Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu trung bình trong mỗi ml có không quá 25 tiêu phân kích thước bằng 10 µm hay lớn hơn và không quá 3 tiêu phân kích thước bằng hay lớn hơn 25 µm.

Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích nhỏ hơn hoặc bằng 100 ml: Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu trung bình trong mỗi đơn vị đã kiểm tra có không quá 6000 tiêu phân kích thước bằng 10 µm hay lớn hơn và không quá 600 tiêu phân kích thước bằng 25 µm hay lớn hơn.

Nếu số lượng tiêu phân trung bình vượt quá giới hạn, kiểm tra chế phẩm bằng Phương pháp 2.

Phương pháp 2: Dùng kính hiển vi

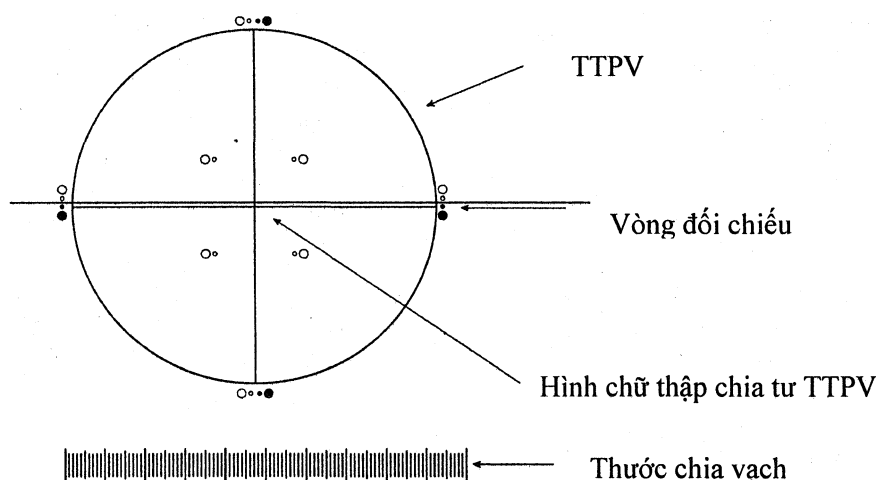
Quy định chung

Tiến hành thử nghiệm trong các điều kiện hạn chế được nhiễm tiêu phân, tốt nhất là trong tủ lọc khí vô khuẩn.

Rửa thật cẩn thận dụng cụ thủy tinh và dụng cụ lọc (trừ màng lọc) bằng dung dịch tẩy rửa ẩm, tráng lại bằng nước cho sạch hết chất tẩy. Ngay trước khi dùng, tráng lại các dụng cụ từ trên xuống dưới, bên ngoài, sau đó là bên trong với *nước không có tiểu phân (TT)*. Để kiểm tra môi trường có thích hợp cho thử nghiệm, dụng cụ thủy tinh và màng lọc có đủ sạch, nước sử dụng có hết tiểu phân hay không, tiến hành phép thử sau:

Bộ lọc để lưu giữ các tiểu phân bao gồm màng lọc thích hợp và để lọc bằng thủy tinh hoặc vật liệu khác thích hợp, nối với máy hút chân không.

Màng lọc kích thước thích hợp màu đen hoặc xám sẫm, với lỗ xốp bằng 1,0 μm hoặc nhỏ hơn.



Hình 11.8.1 - Trắc vi thị kính

Kiểm tra giới hạn tiểu phân của 50 ml *nước không có tiểu phân (TT)* theo phương pháp mô tả ở dưới. Nếu có quá 20 tiểu phân kích thước bằng 10 μm hay lớn hơn hoặc có quá 5 tiểu phân kích thước bằng 25 μm hay lớn hơn trên màng lọc, phải tiến hành lại các bước chuẩn bị cho đến khi môi trường, dụng cụ thủy tinh, màng lọc và nước thích hợp cho thử nghiệm.

Dụng cụ

Sử dụng kính hiển vi thích hợp, bộ lọc để lưu giữ các tiểu phân và màng lọc để kiểm tra.

Kính hiển vi có độ phóng đại 100 lần ± 10 lần, được trang bị một trắc vi thị kính hiệu chỉnh bằng một trắc vi vật kính, một bàn soi có khả năng cố định và xoay quanh toàn bộ diện tích lọc của màng lọc, hai nguồn chiếu thích hợp cấp ánh sáng phản xạ bổ sung cho ánh sáng chéo.

Trắc vi thị kính (Hình 11.8.1) bao gồm một vòng tròn lớn có hình chữ thập chia tư, các vòng đối chiếu trong suốt hay màu đen đường kính 10 μm và 25 μm ở độ phóng đại 100 lần, một thước chia vạch 10 μm đã được kiểm định theo chuẩn quốc gia hoặc quốc tế với sai số tương đối cho phép $\pm 2\%$. Vòng tròn lớn được gọi là thị trường phân vạch (TTPV).

Trong hai nguồn chiếu sáng, một nguồn cấp trường sáng phản xạ từ trong kính hiển vi và nguồn bên ngoài hỗ trợ hội tụ, có khả năng điều chỉnh để rọi sáng khúc xạ chéo ở góc 10° đến 20°.

Cách tiến hành

Trộn đều chế phẩm bằng cách lộn đi, lộn lại nhẹ nhàng dụng cụ chứa 20 lần liên tiếp. Nếu cần, tháo bỏ phần bảo vệ ngoài nắp đáy. Dùng tia *nước không có tiểu phân (TT)* rửa bề mặt nắp và cổ bình chứa, mở nắp cẩn thận, tránh nhiễm tiểu phân từ bên ngoài.

Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích từ 25 ml trở lên, tiến hành thử với từng đơn vị. Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích nhỏ hơn 25 ml, gộp dung dịch của ít nhất 10 đơn vị trong một cốc sạch cho đủ 25 ml. Khi có chỉ dẫn đặc biệt, lấy dung dịch từ một số đơn vị thích hợp, pha loãng thành 25 ml với *nước không có tiểu phân (TT)* hoặc với dung môi thích hợp không có tiểu phân, khi *nước không có tiểu phân (TT)* không thích hợp.

Thuốc bột để pha tiêm được hòa tan trong *nước không có tiểu phân (TT)* hoặc dung môi thích hợp không có tiểu phân, khi *nước không có tiểu phân (TT)* không thích hợp.

Số mẫu thử phải đủ lượng thống kê. Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích từ 25 ml trở lên, số mẫu thử có thể nhỏ hơn 10, phụ thuộc vào kế hoạch lấy mẫu đã đề ra.

Dùng vài ml *nước không có tiểu phân (TT)* làm ẩm bên trong để lọc đã gắn màng lọc. Chuyển toàn bộ dung dịch thử đã chuẩn bị, hay dung dịch trong một đơn vị, vào phễu lọc và hút chân không. Nếu cần, đổ

từng lượng nhỏ vào phễu cho đến khi toàn bộ thể tích dung dịch thử được lọc. Sau lần đổ cuối cùng, bắt đầu dùng tia nước không có tiểu phân (TT) rửa thành bên trong để lọc. Hút chân không cho tới khi bề mặt màng lọc không còn chất lỏng. Đặt màng lọc vào hộp lồng Petri và để khô tự nhiên bằng cách mở hé nắp hộp. Sau khi màng lọc khô, đặt hộp lồng Petri lên bàn soi của kính hiển vi và soi toàn bộ màng lọc dưới ánh sáng phản xạ từ nguồn chiếu. Đếm số tiểu phân bằng 10 μm hay lớn hơn và số tiểu phân bằng 25 μm hay lớn hơn. Hoặc, có thể đếm trên một phần của màng lọc, rồi tính số lượng trên cả màng lọc. Tính số lượng tiểu phân trung bình cho chế phẩm đem thử.

Quá trình phân loại tiểu phân được tiến hành bằng cách so sánh mỗi tiểu phân với các vòng đối chiếu 10 μm và 25 μm . Đường kính bên trong của các vòng đối chiếu trong suốt dùng để phân loại tiểu phân màu trắng và trong suốt, còn tiểu phân thâm màu được phân loại bằng đường kính ngoài của các vòng đối chiếu màu đen.

Khi tiến hành kiểm tra theo Phương pháp 2, không phân loại hay liệt kê các chất vô định hình, nửa lỏng hoặc các chất không rõ ràng về hình thái khác, chúng có biểu hiện biến màu hay đổi màu trên màng lọc. Những chất này nhỏ, không biểu hiện rõ ràng, dạng sền sệt hay như có màng. Trong trường hợp này cần kiểm tra bổ sung bằng Phương pháp 1.

Đánh giá kết quả

Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích lớn hơn 100 ml: Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu trung bình trong mỗi ml có không quá 12 tiểu phân kích thước bằng 10 μm hay lớn hơn và không quá 2 tiểu phân kích thước bằng 25 μm hay lớn hơn.

Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích nhỏ hơn hoặc bằng 100 ml: Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu trung bình trong mỗi đơn vị đã kiểm tra có không quá 3000 tiểu phân kích thước bằng 10 μm hay lớn hơn và không quá 300 tiểu phân kích thước bằng 25 μm hay lớn hơn.

B. Xác định độ trong (Xác định tiểu phân nhìn thấy bằng mắt thường)

Tiểu phân trong thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền là các hạt nhỏ không hòa tan, linh động, không phải là bọt khí, có nguồn gốc ngẫu nhiên từ bên ngoài.

Phép thử này là qui trình đơn giản để đánh giá độ trong của thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền.

Dụng cụ

Thiết bị (Hình 11.8.2) là một bộ dụng cụ để soi bao gồm:

Bảng màu đen bề mặt mờ, kích thước thích hợp, gắn thẳng đứng.

Bảng màu trắng không loá (không bóng), kích thước thích hợp, gắn thẳng đứng bên cạnh bảng màu đen.

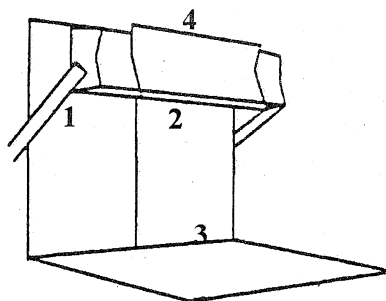
Hộp đèn có thể điều chỉnh với nguồn ánh sáng trắng được che chắn thích hợp và bộ khuếch tán ánh sáng thích hợp (như nguồn sáng bao gồm hai đèn huỳnh quang 13 W, mỗi ống dài 525 mm). Cường độ chiếu sáng tại vùng soi phải duy trì từ 2000 lux đến 3750 lux. Có thể phải sử dụng cường độ cao hơn đối với đồ chứa là thủy tinh màu hoặc plastic.

Cách tiến hành

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, lấy ngẫu nhiên 20 đơn vị. Loại bỏ mọi nhãn mác dán vào đồ chứa, rửa sạch và làm khô bên ngoài. Lắc nhẹ hay lộn đi, lộn lại chậm từng đơn vị, tránh không tạo thành bọt khí và quan sát khoảng 5 giây trước bảng màu trắng. Tiến hành lặp lại trước bảng màu đen.

Đánh giá kết quả

Nếu có không quá một đơn vị có tiểu phân nhìn thấy bằng mắt thường, tiến hành kiểm tra lại với 20 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá một đơn vị trong số 40 đơn vị đem thử có tiểu phân nhìn thấy bằng mắt thường.



1. Bảng màu đen bề mặt mờ
- 2, 3. Bảng màu trắng không loá
4. Hộp đèn có thể điều chỉnh

Hình 11.8.2 - Dụng cụ để soi độ trong

PHỤ LỤC 12

12.1 LẤY MẪU DƯỢC LIỆU

Lấy mẫu dược liệu là việc lựa chọn, thu thập các mẫu dược liệu cho việc kiểm tra chất lượng.

Mức độ đại diện của các mẫu dược liệu được lấy có ảnh hưởng trực tiếp đến độ chính xác và độ đúng của việc kiểm tra.

Các yêu cầu chung về việc lấy mẫu dược liệu như sau:

1. Kiểm tra trước khi lấy mẫu

Kiểm tra đối chiếu tên và nguồn gốc nguyên liệu;

Kiểm tra đặc điểm và hình dạng bao gói;

Kiểm tra sự nguyên vẹn, sạch sẽ, mức độ nhiễm mốc và tạp chất lạ của bao bì.

Các bao gói không bình thường cần được kiểm tra riêng một cách kỹ càng.

Ghi chép chi tiết kết quả kiểm tra.

2. Cách thức lấy mẫu

Cách thức lấy mẫu:

Tổng số bao gói dưới 5: Lấy mẫu từng bao gói.

Dưới 100: Lấy mẫu 5 bao gói.

Từ 100 đến 1000: Lấy mẫu 5 % tổng số bao gói.

Trên 1000: Lấy 50 bao gói cộng thêm số bao gói bằng 1 % của tổng số bao gói vượt quá so với 1000 bao gói.

Dược liệu quý: Lấy mẫu từng bao gói, không kể số lượng các bao gói.

Dược liệu được lấy ở trên, giữa và cuối của mỗi bao gói bằng các phương tiện thích hợp (đối với bao gói lớn thì lấy sâu 10 cm dưới bề mặt của bao gói).

Đối với thuốc có kích thước lớn thì lấy mẫu đại diện thích hợp.

Khối lượng mẫu lấy:

Nếu lượng dược liệu dưới 5 kg thì số lượng mẫu được lấy không ít hơn 3 lần số lượng đem thử nghiệm. Nếu lượng dược liệu lớn hơn 5 kg thì số lượng mẫu lấy được xác định như sau:

Thuốc thông thường: 250 g đến 500 g;

Thuốc bột: 200 g;

Thuốc quý: 5 g đến 10 g (trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng).

3. Tạo mẫu đồng nhất

Mẫu sau khi lấy được trộn đều để có một mẫu đồng nhất dùng cho thử nghiệm. Nếu khối lượng mẫu đồng nhất lớn hơn vài lần so với mẫu thử nghiệm thì làm một mẫu trung bình.

Nếu dược liệu có kích thước nhỏ thì lấy một mẫu trung bình bằng phương pháp chia 4 như sau: San bằng mẫu thành hình vuông, chia mẫu theo 2 đường chéo thành 4 phần bằng nhau. Lấy 2 phần đối diện và

trộn đều. Làm lại thao tác chia 4 cho đến khi thu được số lượng vừa đủ để làm mẫu thử và mẫu lưu.

Trong trường hợp các dược liệu có kích thước lớn thì lấy mẫu trung bình bằng phương pháp khác thích hợp. Khối lượng của mẫu đồng nhất hoặc mẫu trung bình không ít hơn 3 lần số lượng của mẫu đem thử nghiệm. Lượng mẫu này được chia làm 3 phần, 1/3 dùng để phân tích, 1/3 để kiểm tra và số còn lại làm mẫu lưu giữ lại ít nhất 01 năm.

12.2 NHỮNG QUY ĐỊNH CHUNG VỀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG DƯỢC LIỆU

Dược liệu trước khi đưa vào sử dụng đều phải đưa vào kiểm tra chất lượng và phải đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn đã đăng ký như tiêu chuẩn dược điển hoặc tiêu chuẩn cơ sở.

Kiểm tra chất lượng dược liệu bao gồm việc mô tả, định tính, các phép thử tinh khiết, xác định hàm lượng chất chiết được và định lượng hoạt chất trong dược liệu. Việc kiểm tra dược liệu được tiến hành theo quy định sau:

1. Lấy mẫu kiểm nghiệm (Phụ lục 12.1).

2. Sử dụng các mô tả của chuyên luận, một mẫu đối chiếu (dược liệu hay chất tinh khiết) thích hợp đã đạt yêu cầu chất lượng theo chuyên luận riêng để xác nhận kết quả kiểm nghiệm.

3. Nếu dược liệu được kiểm tra đã bị vụn nát thì dược liệu đó vẫn phải đáp ứng các yêu cầu chung, trừ yêu cầu về mô tả trong chuyên luận tương ứng.

4. Nếu dược liệu đòi hỏi phải được làm thành bột trước khi định tính, định lượng thì phải tán dược liệu đó thành bột, rây và trộn đều như dược mô tả trong Phụ lục 3.5 và trong chuyên luận riêng.

5. Chỉ tiêu “Mô tả” bao gồm những mô tả về hình thái, kích thước, màu sắc, mùi vị, các đặc điểm của bề mặt, vết bẻ hay mặt cắt của dược liệu hoặc đặc điểm thể chất của dược liệu.

a. “Hình thái” là hình dạng của dược liệu khô. Thông thường dược liệu được quan sát mà không cần xử lý trước. Các loại dược liệu là lá hay hoa bị nhăn nheo, khô quăn có thể được làm ẩm, làm mềm và trải phẳng trước khi quan sát. Đối với một vài loại quả và hạt nếu cần có thể được làm mềm và loại bỏ vỏ hạt để kiểm tra đặc điểm bên trong.

b. “Kích thước” là chiều dài, đường kính và độ dày của dược liệu. Tiến hành đo trên một số mẫu. Cho phép một vài mẫu có giá trị hơi cao hơn hoặc thấp hơn giá trị đã xác định. Sử dụng thước đo chia vạch tới milimet. Đối với hạt hay vật có kích thước nhỏ, xếp 10 hạt gần nhau theo một hàng trên một tờ giấy có chia vạch tới milimet, đo và tính giá trị trung bình.

c. “Màu sắc” của dược liệu được quan sát bằng mắt thường ở ánh sáng ban ngày. Màu có thể được mô tả

bằng các sắc độ như “hơi”, “đậm” hay “nhạt” (ví dụ màu hơi vàng, màu vàng đậm, màu vàng nhạt). Nếu màu được mô tả là màu phối hợp của hai màu thì màu chính là màu ghi trước (ví dụ trong màu nâu vàng thì màu nâu là màu chính).

d. Đặc điểm bên ngoài, bề mặt vết bẻ hay cắt ngang của dược liệu thường được quan sát trên dược liệu chưa sơ chế. Nếu quan sát thấy những đường vân khác nhau trên mặt bẻ thì có thể cắt phẳng rồi quan sát.

e. “Mùi” của dược liệu được kiểm tra bằng cách ngửi trực tiếp hoặc sau khi bẻ gãy và vò nát. Cũng có thể ngửi sau khi làm ẩm dược liệu bằng nước nóng.

f. “Vị” của dược liệu được kiểm tra bằng cách nếm trực tiếp dược liệu hoặc nếm dịch chiết nước. *Nên cẩn thận khi nếm những vị thuốc có độc.*

6. Định tính là những phương pháp dùng để nhận biết dược liệu, bao gồm các kinh nghiệm truyền thống, phương pháp vi học và các phương pháp lý hóa.

a. Nhận biết dược liệu dựa theo kinh nghiệm bằng phương pháp đơn giản và truyền thống như sự chìm hay nổi trong nước, tiếng nổ, màu của ngọn lửa hay khói và mùi khi đốt cháy dược liệu v.v...

b. Định tính dược liệu bằng phương pháp vi học là việc quan sát đặc điểm của các tế bào, các mô của lát cắt, của bột hay (trong một vài trường hợp) của bề mặt dược liệu dưới kính hiển vi. (Phụ lục 12.18.)

c. Định tính lý học là việc xác định các chỉ số như độ tan, tỉ trọng, chiết xuất, năng suất quay cực v.v... của các dược liệu (Phụ lục 6).

d. Định tính hóa học là phép thử một vài thành phần trong dược liệu bằng các phản ứng hóa học. Phương pháp tiến hành được trình bày ở các chuyên luận dược liệu cụ thể.

e. Định tính sắc ký là việc sử dụng các phương pháp sắc ký như sắc ký lớp mỏng, sắc ký khí, sắc ký lỏng hiệu năng cao... để phát hiện một số thành phần có trong dược liệu; so sánh với chất chuẩn hay thành phần trong dược liệu chuẩn. Phương pháp tiến hành được trình bày ở Phụ lục 5 và các chuyên luận dược liệu cụ thể.

f. Định tính huỳnh quang là quan sát sự phát huỳnh quang của bề mặt hay mặt cắt dược liệu hoặc của dịch chiết dược liệu ở điều kiện thường hay sau khi cho tác dụng với acid, kiềm hay thuốc thử. Trừ khi có quy định riêng trong chuyên luận, mẫu thử được quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, cách nguồn sáng khoảng 10 cm.

g. Trừ những qui định trong chuyên luận riêng, định tính vi thăng hoa thường được tiến hành như sau: Đặt một vòng kim loại đường kính khoảng 2 cm, cao khoảng 8 mm lên một tấm kim loại mỏng có kích thước hơi lớn hơn. Trải một lớp mỏng bột dược liệu trong vòng kim loại và đậy kín bằng một phiến kính bên trên đặt một miếng bông tẩm nước lạnh. Đặt tấm

kim loại đã có dược liệu này lên một lưới amiant có 1 lỗ tròn đường kính khoảng 2 cm sao cho vòng kim loại có dược liệu nằm trên lỗ này. Đun nóng nhẹ phía dưới lỗ cho đến khi bột dược liệu bị cháy xém. Nhấc phiến kính ra và để nguội. Quan sát hình dạng và màu sắc của tinh thể chất được thăng hoa đọng lại trên phiến kính bằng kính hiển vi và/hoặc tiến hành phản ứng hóa học thích hợp đối với chất đã được thăng hoa.

7. Thử tinh khiết là cách kiểm tra độ tinh khiết của dược liệu. Tùy từng dược liệu mà thử tinh khiết có thể bao gồm một số hay tất cả các chỉ tiêu dưới đây:

a. Mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6 hay 12.13).

b. Tro toàn phần và tro không tan trong acid hydrochloric (Phụ lục 9.7 và 9.8).

c. Các tạp chất hữu cơ, các bộ phận khác của dược liệu, các dược liệu bị biến màu, hư thối (Phụ lục 12.11).

d. Tỉ lệ vụn nát của dược liệu (Phụ lục 12.12).

e. Hàm lượng kim loại nặng (Phụ lục 9.4.11).

f. Dư lượng các chất bảo vệ thực vật (Phụ lục 12.17).

g. Xác định chất chiết được là xác định hàm lượng các chất trong dược liệu có thể chiết được bằng dung môi (nước, ethanol hay một dung môi khác) (Phụ lục 12.10).

8. Định lượng là việc xác định hàm lượng của một hay một số chất có trong dược liệu bằng phương pháp hóa học, lý học hoặc sinh học. Định lượng bao gồm cả việc xác định hàm lượng chất béo (Phụ lục 12.9), tinh dầu (Phụ lục 12.7) và xác định hoạt lực bằng các phép thử sinh học.

12.3 PHÉP THỬ XÁC ĐỊNH CHIẾT KIỆT ALCALOID

Các phép thử sau đây được dùng để xác định alkaloid đã được lấy kiệt hay chưa.

1. Các alkaloid được chiết bằng nước hoặc dung môi là ethanol - nước

Sau khi chiết ít nhất 3 lần, lấy 0,1 ml đến 0,2 ml của dịch chiết tiếp theo sau khi đã acid hoá bằng dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT), thêm 0,05 ml dung dịch kali tetraiodomercurat (TT) (thuốc thử Mayer) hoặc thêm 0,05 ml dung dịch kali iodobismuthat (TT) (thuốc thử Dragendorff) đối với các alkaloid thuộc họ Cà. Không được có tủa hay tạo dung dịch đục. Trong trường hợp dung môi chiết có độ cồn lớn hơn 25 % trở lên thì sau khi acid hoá, cần bay hơi hết dung môi (bằng cách đặt khay sứ chứa dịch chiết lên nồi cách thủy nóng) rồi mới thêm thuốc thử tạo tủa.

2. Các alkaloid được chiết bằng dung môi hữu cơ

Sau khi chiết ít nhất 3 lần, lấy 1 ml đến 2 ml dịch chiết tiếp theo, thêm 1 ml đến 2 ml dung dịch acid

hydrocloric 0,1 M (TT), bay hơi hết dung môi hữu cơ, chuyển phần dịch lỏng còn lại vào một ống nghiệm và thêm 0,05 ml *dung dịch kali tetraiodomercurat (TT)* (thuốc thử Mayer) hoặc thêm 0,05 ml *dung dịch kali iodobismuthat (TT)* (thuốc thử Dragendorff) đối với các alcaloid thuộc họ Cà hoặc thêm 0,05 ml *dung dịch iod-kali iodid (TT)* (thuốc thử Bouchardat) đối với emetin. Không được thấy có tủa đục rõ tạo thành trong dung dịch.

12.4 ĐỊNH LƯỢNG ALDEHYD TRONG TINH DẦU

Cho 1 g tinh dầu cần xác định aldehyd vào một ống thủy tinh có nút mài (kích thước khoảng 150 mm × 25 mm), thêm 5 ml *toluen (TT)* và 15 ml *dung dịch hydroxylamin trong ethanol (TT)*, lắc mạnh và định lượng ngay với *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 % (CĐ)* cho tới khi màu đỏ chuyển sang màu vàng. Tiếp tục lắc và định lượng tới khi lớp dưới có màu vàng bền vững của chỉ thị, sau khi đã lắc mạnh 2 phút và để yên cho tách lớp; phản ứng xảy ra hoàn toàn trong khoảng 15 phút. Kết quả chuẩn độ cho một giá trị tương đối về hàm lượng aldehyd trong mẫu.
Lặp lại quy trình định lượng như trên, dùng dung dịch thử sơ bộ ở trên thêm 0,5 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 % (CĐ)* làm chuẩn màu cho điểm kết thúc định lượng. Tính hàm lượng aldehyd từ lần xác định thứ hai. Dùng đương lượng đã cho trong chuyên luận riêng.

12.5 ĐỊNH LƯỢNG CINEOL TRONG TINH DẦU

Cân 3,00 g mẫu thử vừa được làm khan bằng *natri sulfat khan (TT)* vào một ống nghiệm khô, thêm 2,10 g *o-cresol (TT)* đã chảy lỏng. Đặt ống nghiệm vào trong thiết bị xác định nhiệt độ đông đặc (Phụ lục 6.6) và làm lạnh, khuấy liên tục. Khi sự kết tinh bắt đầu, nhiệt độ hơi tăng lên một chút; ghi nhiệt độ cao nhất đạt được (t_1).
Làm chảy hỗn hợp trên nồi cách thủy nhưng không được để nhiệt độ vượt quá 5 °C so với nhiệt độ t_1 . Đặt lại ống nghiệm vào trong thiết bị đã được duy trì ở nhiệt độ dưới t_1 5 °C.
Khi sự kết tinh lại xảy ra hoặc khi nhiệt độ của hỗn hợp hạ xuống 3 °C dưới t_1 , khuấy liên tục; ghi nhiệt độ cao nhất mà hỗn hợp đông lại (t_2). Lặp lại quá trình này cho tới khi 2 giá trị cao nhất thu được (t_2) chênh nhau không quá 0,2 °C. Nếu xảy ra quá trình chậm đông, thêm 1 tinh thể nhỏ của hỗn hợp gồm 3,00 g *cineol (TT)* và 2,10 g *o-cresol (TT)* đã chảy lỏng, để tạo sự kết tinh. Nếu t_2 thấp hơn 27,4 °C, lặp lại thí nghiệm sau khi thêm 5,10 g hỗn hợp này.

Xác định phần trăm cineol (kl/kl) tương ứng với điểm đông (t_2) từ bảng dưới đây và ta có các giá trị trung gian bằng phương pháp nội suy. Nếu có cho thêm 5,1 g hỗn hợp cineol - o-cresol, tính phần trăm (kl/kl) của cineol từ biểu thức 2 ($A - 50$); trong đó A là giá trị tương ứng cho một điểm đông của t_2 được lấy từ bảng này.

t_2°	% cineol (kl/kl)	t_2°	% cineol (kl/kl)
24	45,5	40	67,0
25	47,0	41	68,5
26	48,5	42	70,0
27	49,5	43	72,5
28	50,5	44	74,0
29	52,0	45	76,0
30	53,5	46	78,0
31	54,5	47	80,0
32	56,0	48	82,0
33	57,0	49	84,0
34	58,5	50	86,0
35	60,0	51	88,5
36	61,0	52	91,0
37	62,5	53	93,5
38	63,5	54	96,0
39	65,0	55	99,0

12.6 ĐỊNH LƯỢNG TANINOID TRONG DƯỢC LIỆU

Có thể áp dụng 1 trong 2 phương pháp sau:

Phương pháp 1

Cân chính xác một khối lượng bột dược liệu đã rây qua rây số 355 (kích thước mắt rây 0,355 mm) và chứa khoảng 1 g taninoid, cho vào một bình nón, thêm 150 ml *nước* và đun trên cách thủy trong 30 phút. Để nguội, chuyển hỗn hợp vào bình định mức 250 ml. Thêm *nước* vừa đủ tới gần, lọc. Dịch lọc này dùng làm dung dịch thử.

Xác định chất chiết được trong nước toàn phần

Lấy chính xác 25 ml dung dịch thử đem bốc hơi đến khô, sấy cân ở 105 °C trong 3 giờ. Cân, được khối lượng T_1 (g).

Xác định chất chiết được trong nước không liên kết với bột đa

Lấy chính xác 100 ml dung dịch thử, thêm 6 g *bột đa khô*. Lắc đều trong 15 phút và lọc. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc đem bốc hơi đến khô, sấy cân ở 105 °C trong 3 giờ. Cân, được khối lượng T_2 (g).

Xác định bột đa tan trong nước

Lấy chính xác 100 ml nước cất, thêm 6 g bột đa khô. Lắc đều trong 15 phút và lọc. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc bốc hơi đến khô, sấy cân ở 105 °C trong 3 giờ. Cân, được khối lượng T_0 (g).

Hàm lượng phần trăm (%) taninoid trong dược liệu được tính theo công thức:

$$\frac{(T_1 - T_2 + T_0) \times 10}{a} \times 100$$

Trong đó:

a là khối lượng dược liệu (g).

Phương pháp 2

Tiến hành thử nghiệm trong điều kiện tránh ánh sáng.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg acid galic chuẩn vào một bình định mức 100 ml màu nâu, thêm nước để hòa tan và vừa đủ đến vạch. Hút chính xác 5 ml dung dịch trên vào bình định mức 50 ml màu nâu, thêm nước vừa đủ, lắc đều (dung dịch có nồng độ acid galic khoảng 0,05 mg/ml).

Xây dựng đường chuẩn: Hút chính xác lần lượt 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; 5,0 ml dung dịch chuẩn vào các bình định mức 25 ml riêng biệt màu nâu, thêm vào mỗi bình 1 ml thuốc thử phosphomolybdotungstic (TT), sau đó thêm lần lượt 11 ml, 10 ml, 9 ml, 8 ml, 7 ml nước vào các bình tương ứng, thêm dung dịch natri carbonat 29 % đến vạch, lắc đều. Đo độ hấp thụ của các dung dịch thu được ở 760 nm (Phụ lục 4.1), chuẩn bị song song một mẫu trắng. Xây dựng đường chuẩn với độ hấp thụ là trục tung và nồng độ dung dịch là trục hoành.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột dược liệu (theo qui định của chuyên luận riêng) vào bình định mức 250 ml màu nâu, thêm 150 ml nước, để qua đêm, sau đó lắc siêu âm trong 10 phút, để nguội, thêm nước vừa đủ, lắc đều, để lắng. Lọc, bỏ 50 ml dịch lọc đầu, hút chính xác 20 ml dịch lọc vào bình định mức 100 ml màu nâu, thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Tiến hành:

Hàm lượng phenol toàn phần: Hút chính xác 2 ml dung dịch thử vào bình định mức 25 ml màu nâu. Tiến hành theo như phần xây dựng đường chuẩn bắt đầu từ “thêm 1 ml thuốc thử phosphomolybdotungstic (TT)”, thêm 10 ml nước, đo độ hấp thụ của dung dịch thu được như phương pháp trên và tính toán hàm lượng phenol theo acid galic trong dung dịch thử dựa trên đường chuẩn đã xây dựng.

Hàm lượng polyphenol không liên kết với casein: Hút chính xác 25 ml dung dịch thử vào bình nón nút mài 100 ml đã có 0,6 g casein, đậy kín. Đặt bình trong cách thủy ở nhiệt độ 30 °C trong 1 giờ, lắc đều, để nguội. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu tiên, hút chính xác 2 ml dịch lọc sau cho vào bình định mức 25 ml màu nâu. Tiến hành theo

như phần xây dựng đường chuẩn bắt đầu từ “thêm 1 ml thuốc thử phosphomolybdotungstic (TT)”, thêm 10 ml nước, đo độ hấp thụ của dung dịch thu được như phương pháp trên và tính toán hàm lượng phenol theo acid galic trong dung dịch dựa trên đường chuẩn đã xây dựng.

Hàm lượng taninoid tính theo acid galic trong dược liệu được tính theo công thức:

Taninoid toàn phần = (Hàm lượng phenol toàn phần) – (Hàm lượng polyphenol không liên kết với casein).

12.7 ĐỊNH LƯỢNG TINH DẦU TRONG DƯỢC LIỆU

Tinh dầu trong dược liệu được định lượng bằng cách cất kéo hơi nước trong dụng cụ cất như mô tả ở hình vẽ. Dịch cất được hứng vào một ống chia độ, sử dụng xylên để giữ lại tinh dầu, pha nước được chảy tự động trở lại bình cất.

Dụng cụ

Dụng cụ định lượng tinh dầu bao gồm các bộ phận sau:

1. Một bình cầu thủy tinh đáy tròn có cổ ngắn với đường kính trong khoảng 29 mm.

2. Bộ phận ngưng cất (xem hình) nối kín được với bình cất, được làm từ thủy tinh có hệ số giãn nở thấp, bao gồm các bộ phận sau:

Khóa K' có một lỗ thông khí, nhánh K có một lỗ đường kính khoảng 1 mm trùng khớp với lỗ thông khí, bề mặt cuối của nhánh K là thủy tinh mài có đường kính trong 10 mm.

Bầu hình quả lê J có thể tích 3 ml.

Ống JL chia vạch đến 0,01 ml.

Bầu tròn L có thể tích khoảng 2 ml.

M là một vòi 3 nhánh.

Điểm nối B cao hơn 20 mm so với vạch chia độ trên cùng.

3. Bộ phận đốt nóng có thể điều chỉnh được nhiệt độ.

4. Giá đỡ thẳng đứng với vòng đỡ nằm ngang có gắn vật liệu cách điện.

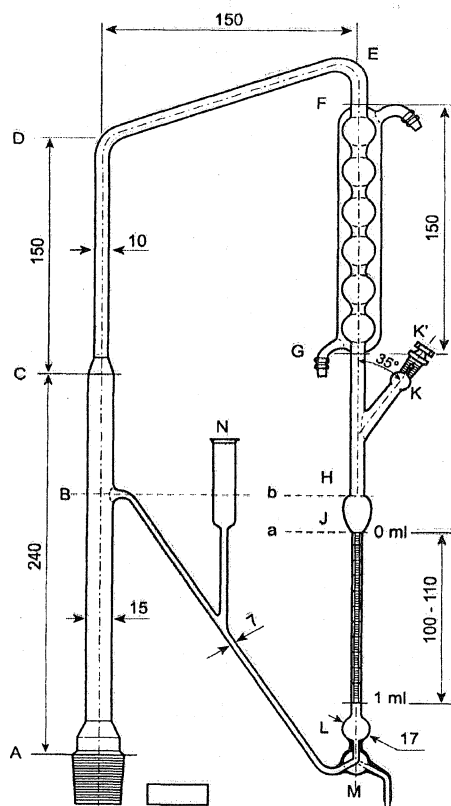
Tiến hành

Cho một thể tích dung môi cất theo quy định vào bình cất, thêm vài mảnh đá bọt và lắp bộ ngưng cất vào. Thêm nước qua phễu N tới mức B. Mở khóa K', dùng pipet cho vào một lượng xylên (TT) theo quy định (tựa đầu pipet vào phía cuối của nhánh K). Đóng khóa K' sao cho lỗ thông trùng khớp. Đun bình cho đến sôi, sau đó nếu không có chỉ dẫn gì khác thì điều chỉnh tốc độ cất sao cho cất được 2 ml/min đến 3 ml/min.

Xác định tốc độ cất như sau: Mở vòi 3 nhánh M để hạ mức dịch cất trong ống đến vạch (a) của bầu (J), khóa vòi M lại và xác định thời gian cần thiết để cất được đến vạch (b).

Mở vòi M và tiếp tục cất, điều chỉnh nhiệt độ đun để có tốc độ cất theo quy định. Cất trong 30 phút. Ngừng cất, đọc thể tích xylen trong ống hứng chia độ khi nhiệt độ ống hứng trở về nhiệt độ phòng.

Cho vào bình cất một lượng mẫu theo qui định và tiếp tục cất với thời gian và tốc độ cất như quy định của chuyên luận riêng. Ngừng cất, đọc thể tích hỗn hợp tinh dầu và xylen trong ống hứng chia độ khi nhiệt độ ống hứng trở về nhiệt độ phòng. Thể tích đọc được lần này trừ đi thể tích xylen sẽ cho thể tích tinh dầu trong lượng mẫu định lượng. Tính toán kết quả thu được biểu thị theo ml trong một kg mẫu thử.



Hình 12.7. Dụng cụ cất tinh dầu.
Kích thước tính bằng mm

12.8 CÁC PHÉP THỬ CỦA TINH DẦU

Dầu béo và nhựa trong tinh dầu

Nhỏ 1 giọt tinh dầu lên giấy mỏng, để khô trong gió hay hơi nóng nhẹ cho bay hết mùi tinh dầu. Không được xuất hiện vết bóng mờ hoặc vết dầu mỡ.

Ester liên quan

Đun nóng 1 ml tinh dầu với 3 ml dung dịch kali hydroxyd 10 % trong ethanol 96 % (TT) mới pha trên cách thủy trong 2 phút. Không được xuất hiện tinh thể trong vòng 30 phút kể từ lúc bắt đầu đun nguội.

Cẩn sau khi bay hơi

Cẩn sau khi bay hơi là phần trăm khối lượng của tinh dầu còn lại sau khi bay hơi trên cách thủy ở điều kiện như sau:

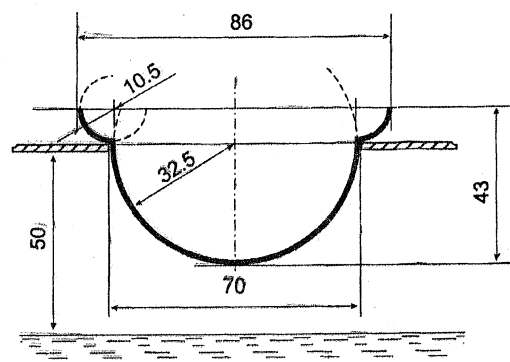
Thiết bị

Nồi cách thủy có nắp đậy với những lỗ có đường kính 70 mm.

Cốc cô bằng thủy tinh chịu nhiệt, tro về mặt hóa học. Bình hút ẩm.

Cách tiến hành

Cân 5,00 g tinh dầu (trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận) vào một cốc cô đã được cân bì sau khi đun nóng trên cách thủy trong 1 giờ và làm nguội trong bình hút ẩm. Đặt cốc cô lên trên nồi cách thủy tại vị trí lỗ có đường kính 70 mm và giữ cho mực nước cách dưới mặt nồi cách thủy khoảng 50 mm trong suốt thời gian tiến hành (xem hình vẽ). Đun sôi mạnh nước ở nồi cách thủy dưới áp suất thường. Cô tinh dầu trên nồi cách thủy sôi đến cạn trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng. Làm nguội cốc cô trong bình hút ẩm và cân khối lượng.



Hình 12.8. Dụng cụ xác định cẩn tinh dầu sau khi bay hơi.
Kích thước tính bằng mm

Độ tan trong ethanol

Hút chính xác 1,0 ml tinh dầu vào ống thủy tinh nút mài 25 ml hoặc 30 ml và đặt trong thiết bị ổn nhiệt duy trì ở nhiệt độ $20^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. Dùng buret có dung tích ít nhất 20 ml, thêm từng 0,1 ml ethanol có nồng độ như chỉ dẫn của chuyên luận cho đến khi tan thành dung dịch hoàn toàn, sau đó tiếp tục thêm từng 0,5 ml đến 20 ml, lắc mạnh thường xuyên. Đọc thể tích ethanol đã dùng để tạo thành dung dịch trong và nếu dung dịch bị đục hoặc có màu trắng sữa trước khi lượng ethanol thêm vào đạt 20 ml thì đọc thể tích tại thời điểm xuất hiện đục hoặc màu trắng sữa và đọc thể tích tại thời điểm hết đục hay hết màu trắng sữa.

Nếu dung dịch không trong, khi đã thêm 20 ml ethanol có nồng độ như chỉ dẫn của chuyên luận, lặp lại phép thử với ethanol có nồng độ cao hơn.

Một tinh dầu được gọi là "*Tan trong v hoặc hơn thể tích ethanol có nồng độ t*" có nghĩa là khi dùng v thể tích ethanol để tạo thành dung dịch trong, dung dịch vẫn trong sau khi đã thêm ethanol cùng nồng độ đến 20 thể tích, so sánh với tinh dầu chưa pha loãng.

Một tinh dầu được gọi là “*Tan trong v thể tích ethanol có nồng độ t, chuyển thành đục khi pha loãng*” có nghĩa là khi dung dịch trong với v thể tích ethanol chuyển thành đục với v_1 thể tích (v_1 nhỏ hơn 20) và giữ nguyên tình trạng khi thêm từ từ ethanol cùng nồng độ đến 20 thể tích.

Một tinh dầu được gọi là “*Tan trong v thể tích ethanol, chuyển thành đục giữa khoảng v_1 và v_2 thể tích ethanol*” có nghĩa là khi dung dịch trong với v thể tích ethanol chuyển thành đục với v_1 thể tích (v_1 nhỏ hơn 20) và giữ nguyên tình trạng khi thêm từ từ ethanol cùng nồng độ đến v_2 thể tích và chuyển thành dung dịch trong (v_2 nhỏ hơn 20).

Một tinh dầu được gọi là “*Tan thành dạng sữa*” có nghĩa là khi dung dịch trong ethanol có màu hơi xanh nhẹ tương tự như màu của hỗn hợp chuẩn đục mới pha gồm 0,5 ml dung dịch bạc nitrat 1,7 % (kl/tt) trộn với 0,05 ml acid nitric (TT), thêm 50 ml dung dịch natri clorid 0,0012 % (TT), lắc đều và để yên trong chỗ tối 5 phút.

Nước

Trộn 10 giọt tinh dầu với 1 ml carbon disulfid (TT), dung dịch phải trong.

12.9 DẦU BÉO

Tạp chất kiểm

Trộn 10 ml aceton (TT) và 0,3 ml nước trong ống nghiệm, thêm 0,05 ml dung dịch xanh bromophenol 0,04 % trong ethanol 96 % (TT), trung hòa dung dịch (nếu cần) bằng dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT) hoặc dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT). Thêm 10 ml dầu vào hỗn hợp trên, lắc và để lắng. Không quá 0,1 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CD) cần thêm vào để làm chuyển màu lớp dung dịch phía trên sang màu vàng.

Định tính dầu béo bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng

Tiến hành theo Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

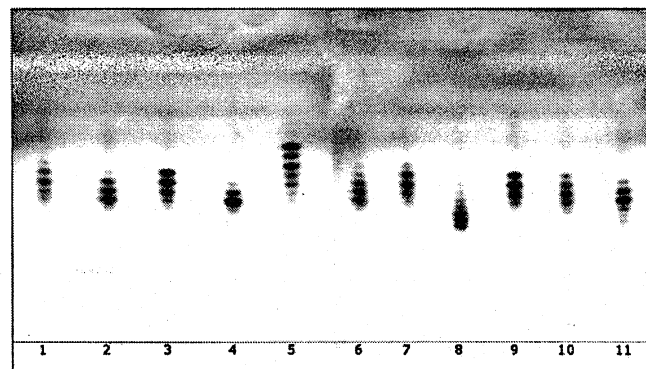
Chất hấp phụ là octadecylsilyl silica gel cho sắc ký lớp mỏng hiệu năng cao (Merck HPTLC silica gel RP-18 là phù hợp).

Dung dịch thử: Hòa tan khoảng 20 mg (1 giọt) dầu trong 3 ml dicloromethan (TT), trừ khi có chỉ dẫn khác.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan khoảng 20 mg (1 giọt) dầu ngô trong 3 ml dicloromethan (TT).

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký hai lần, mỗi lần 0,5 cm với dung môi khai triển là ether (TT). Triển khai sắc ký hai lần nữa, mỗi lần 8 cm với dung môi khai triển là hỗn hợp dicloromethan - acid acetic băng - aceton

(20 : 40 : 50). Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun dung dịch acid phosphomolybdic 10 % trong ethanol 96 % (TT). Sấy bản mỏng ở 120 °C trong khoảng 3 phút và quan sát dưới ánh sáng tự nhiên. Sắc ký đồ xuất hiện các vết đặc trưng như trên hình dưới đây.



- | | |
|------------------------|--------------------|
| 1. Dầu lạc | 6. Dầu hạt cải |
| 2. Dầu vừng | 7. Dầu hạt lanh |
| 3. Dầu ngô | 8. Dầu oliu |
| 4. Dầu hạt cải | 9. Dầu hướng dương |
| (không có acid erucic) | 10. Dầu hạnh nhân |
| 5. Dầu đậu tương | 11. Dầu mầm lúa mì |

Hình 12.9: Sắc ký đồ định tính dầu béo.

Phép thử các dầu tạp bằng sắc ký lớp mỏng

Tiến hành theo Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Chất hấp phụ là kieselguhr G (TT). Làm ẩm bản mỏng khô bằng cách đặt trong bình có lớp dung môi dày 5 mm là hỗn hợp parafin lỏng - ether dầu hỏa (điểm sôi 50 °C đến 70 °C) (10 : 90). Để đến khi dung môi khai triển được ít nhất 12 cm, lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí trong 5 phút.

Pha động: Nước - acid acetic băng (1 : 9).

Dung dịch thử: Đun hồi lưu 2 g dầu với 30 ml dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol (TT) trong 45 phút, pha loãng với 50 ml nước, để nguội, chuyển sang bình gạn, lắc với ether ethylic (TT) 3 lần, mỗi lần 50 ml, loại bỏ lớp dịch chiết ether. Acid hóa lớp nước bằng acid hydrocloric (TT) rồi chiết bằng ether ethylic (TT) ba lần, mỗi lần 50 ml. Tập trung các dịch chiết ether, rửa bằng nước ba lần, mỗi lần 10 ml, làm khan dịch chiết ether bằng natri sulfat khan (TT) và lọc. Cô dịch chiết ether trên cách thủy, hòa tan 40 mg cặn trong 4 ml cloroform (TT). Các acid béo có thể thu được từ dung dịch đã xà phòng hóa trong quá trình xác định các chất không xà phòng hóa.

Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị giống như dung dịch thử nhưng dùng 2 g hỗn hợp gồm 19 thể tích dầu ngô và 1 thể tích dầu hạt cải thay cho mẫu thử.

Tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi

được 8 cm. Lấy bản mỏng ra khỏi bình, làm khô bản mỏng ở 110 °C trong 10 phút và trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận, đặt bản mỏng vào bình bão hòa hơi iod. Sau một thời gian, xuất hiện các vết từ màu nâu đến nâu vàng. Lấy bản mỏng ra, để yên vài phút cho đến khi màu nâu trên nền bản mỏng biến mất. Phun lên bản mỏng *dung dịch hồ tinh bột (TT)*. Các vết màu xanh xuất hiện, các vết này có thể chuyển thành màu nâu khi để khô và lại chuyển thành màu xanh sau khi phun nước. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử luôn xuất hiện các vết với các giá trị R_f khoảng 0,5 (acid oleic) và khoảng 0,65 (acid linoleic), tương ứng với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử có thể có vết với giá trị R_f khoảng 0,75 (acid linolenic) nhưng không được có vết có giá trị R_f khoảng 0,25 (acid erucic), tương ứng với vết xuất hiện trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Phép thử các dầu tạp bằng phương pháp sắc ký khí

Phép thử các dầu tạp được xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2), dựa trên các methyl ester của acid béo có trong dầu béo.

Phương pháp A

Phương pháp này không áp dụng với các dầu béo có chứa acid béo dạng glycerid với các nhóm epoxy-, hydroepoxy-, cyclopropyl hoặc nhóm cyclopropenyl, hoặc các dầu béo có chứa tỷ lệ lớn lượng acid béo có chuỗi carbon nhỏ hơn 8 hay dầu béo có chỉ số acid lớn hơn 2,0.

Dung dịch thử: Nếu có qui định trong chuyên luận, làm khan dầu béo thử trước giai đoạn methyl hóa. Cân 1,0 g dầu vào bình đáy tròn 25 ml có cổ bình thủy tinh nổi được với ống sinh hàn hồi lưu, cho vài viên đá bọt vào trong bình. Thêm 10 ml *methanol khan (TT)* và 0,2 ml *dung dịch kali hydroxyd 6 % trong methanol*. Lắp sinh hàn hồi lưu, cho khí nitơ chạy qua hỗn hợp với tốc độ khoảng 50 ml trong 1 phút, lắc và đun sôi. Khi dung dịch trở nên trong suốt (thường sau khoảng 10 phút), tiếp tục đun trong 5 phút. Làm nguội bình dưới dòng nước và chuyển dung dịch sang bình gạn. Rửa bình bằng 5 ml *heptan (TT)* và chuyển dịch rửa vào bình gạn, lắc. Thêm 10 ml *dung dịch natri clorid 20 % (TT)* và lắc mạnh. Để yên cho tách lớp và chuyển lớp dung môi sang lọ có chứa *natri sulfat khan (TT)*. Để lắng và lọc.

Dung dịch đối chiếu (a): Chuẩn bị 0,50 g hỗn hợp chuẩn với thành phần được mô tả ở một trong các bảng 12.9 như chỉ dẫn của chuyên luận riêng (nếu chuyên luận riêng không đề cập đến, sử dụng thành phần được mô tả trong Bảng 12.9.1). Hòa tan trong *heptan (TT)* và pha loãng đến 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (b): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (a) thành 10 ml bằng *heptan (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (c): Chuẩn bị 0,50 g hỗn hợp các methyl ester của acid béo⁽¹⁾, với thành phần tương ứng với các acid béo cần xác định của mẫu thử theo qui định của chuyên luận riêng. Hòa tan trong *heptan (TT)* và pha loãng đến 50 ml với cùng dung môi. Có thể sử dụng các hỗn hợp methyl ester bán sẵn.

Điều kiện sắc ký:

Cột:

Chất liệu: Silica nung chảy, thủy tinh hoặc thạch anh. Kích cỡ: Dài 10 m đến 30 m, đường kính 0,2 mm đến 0,8 mm.

Pha tĩnh: Poly[(cyanopropyl)(methyl)][[(phenyl)(methyl)] siloxan hoặc macrogol 20 000 (lớp phim dày 0,1 µm đến 0,5 µm) hoặc một số pha tĩnh thích hợp khác.

Khí mang: Khí heli dùng cho sắc ký hoặc khí hydrogen dùng cho sắc ký.

Tốc độ dòng: 1,3 ml/min (cho cột có đường kính 0,32 mm).

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 100 hoặc ít hơn, tùy thuộc vào đường kính trong của cột sử dụng (1 : 50 khi đường kính cột là 0,32 mm).

Nhiệt độ:

Cột: 160 °C đến 200 °C, tùy thuộc vào chiều dài và loại cột sử dụng (200 °C cho cột dài 30 m và bao bằng lớp macrogol 20 000). Nếu cần hoặc theo chỉ dẫn riêng, tăng nhiệt độ của cột với tốc độ 3 °C /min từ 170 °C đến 230 °C (cho cột dùng macrogol 20 000).

Buồng tiêm: 250 °C.

Detector: 250 °C.

Phát hiện: Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Độ nhạy: Chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a) từ 50 % đến 70 % toàn thang đo khi ghi sắc ký đồ.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống khi sử dụng hỗn hợp chuẩn trong các Bảng 12.9.1 hoặc 12.9.3

Độ phân giải: Không dưới 1,8 giữa pic methyl oleat và methyl stearat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a).

Tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu: Không dưới 5 với pic methyl myristat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (b).

Số đĩa lý thuyết: Không dưới 30000 tính theo pic methyl stearat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a).

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống khi sử dụng hỗn hợp chuẩn trong Bảng 12.9.2

Độ phân giải: Không dưới 4,0 giữa pic methyl caprylat và methyl caprat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a).

Tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu: Không dưới 5 với pic methyl caproat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (b).

Số đĩa lý thuyết: Không dưới 15 000 tính theo pic methyl caprat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a).

Đánh giá sắc độ

Tránh điều kiện thử nghiệm có chiều hướng làm che giấu pic (sự có mặt của các thành phần khác nhau rất ít về thời gian lưu, ví dụ như acid linolenic và acid arachidic).

Phân tích định tính

Xác định các pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (c), các pic có thể được xác định bằng đường chuẩn với sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a) và thông tin ghi ở các bảng 12.9.1, 12.9.2 và 12.9.3.

a) Sử dụng điều kiện đẳng nhiệt để tính logarit của sự biến đổi thời gian lưu như một hàm của số nguyên tử carbon trong acid béo; định tính các pic dựa trên đường thẳng lập được theo cách trên và giá trị "chiều dài chuỗi carbon tương ứng" của các pic khác nhau. Đường chuẩn của các acid béo no là một đường thẳng. Logarit sự biến đổi thời gian lưu của các acid béo không no nằm trên đường thẳng này và có vị trí tương ứng với giá trị không nguyên của số nguyên tử carbon được biết từ giá trị tương ứng với chiều dài chuỗi.

b) Sử dụng chương trình nhiệt độ tuyến tính để xác định thời gian lưu dựa trên số nguyên tử carbon của acid béo, định tính bằng cách so sánh với đường chuẩn của hỗn hợp chuẩn.

Phân tích định lượng

Thông thường, sử dụng phương pháp tính phần trăm mà trong đó tổng diện tích của tất cả các pic trên sắc ký đồ ngoại trừ dung môi được tính là 100 %. Hàm lượng của mỗi thành phần được tính dựa trên tỷ lệ của diện tích pic tương ứng so với tổng diện tích của tất cả các pic thu được từ mẫu đem thử. Loại bỏ các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 % so với tổng diện tích pic.

Trong một vài trường hợp như sự có mặt của các acid béo từ 12 nguyên tử carbon trở xuống, hệ số hiệu chỉnh có thể được sử dụng trong các chuyên luận riêng để xác định tỷ lệ phần trăm diện tích pic.

Phương pháp B

Phương pháp này không áp dụng với các dầu béo có chứa acid béo dạng glycerid với các nhóm epoxy-, hydroepoxy-, cyclopropyl, nhóm cyclopropenyl, hoặc các dầu béo có chỉ số acid lớn hơn 2,0.

Dung dịch thử

Lấy 0,100 g chế phẩm cho vào ống ly tâm 10 ml có nắp xoáy. Hòa tan trong 1 ml heptan (TT) và 1 ml dimethyl carbonat (TT), đun nóng nhẹ (50 °C đến 60 °C) và lắc mạnh. Thêm 1 ml dung dịch natri (TT) 1,2 % trong methanol khan (TT) (được pha chế hết sức cẩn thận) khi dung dịch còn ấm, lắc mạnh trong 5 phút. Thêm 3 ml nước và lắc mạnh trong 30 giây. Ly tâm trong 15 phút với tốc độ 1500 vòng/phút. Tiêm 1 µl pha hữu cơ.

Dung dịch đối chiếu và đánh giá sắc độ: Trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, tiến hành như mô tả ở phương pháp A.

Cột:

Chất liệu: Silica nung chảy.

Kích cỡ: Dài 30 m, đường kính 0,25 mm.

Pha tĩnh: Macrogol 20 000 (lớp phim dày 0,25 µm).

Khí mang: Khí heli dùng cho sắc ký.

Tốc độ dòng: 0,9 ml/min

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 100.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 15	100
	15 - 36	100 → 225
	36 - 61	225
Buồng tiêm		250
Detector		250

Phát hiện: Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Phương pháp C

Phương pháp này không áp dụng với các dầu béo có chứa acid béo dạng glycerid với các nhóm epoxy-, hydroepoxy-, aldehyd, ceton, cyclopropyl, nhóm cyclopropenyl, và kết hợp với các đa acid béo không no hay các nhóm acetylenic do các nhóm này bị phá hủy một phần hay toàn bộ.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g mẫu thử trong 2 ml dung dịch natri hydroxyd 2 % trong methanol trong bình nón 25 ml và đun sôi hồi lưu trong 30 phút. Thêm 2,0 ml dung dịch boron trifluorid (TT) qua ống sinh hàn và tiếp tục đun sôi trong 30 phút. Thêm 4 ml heptan (TT) qua ống sinh hàn và tiếp tục đun sôi trong 5 phút. Làm nguội, thêm 10 ml dung dịch natri clorid bão hòa (TT), lắc trong 15 giây và thêm tiếp dung dịch natri clorid bão hòa (TT) cho đến khi pha dung môi trên dâng lên đến cổ bình. Lấy 2 ml pha dung môi trên, rửa bằng nước ba lần, mỗi lần 2 ml và làm khan bằng natri sulfat khan (TT).

Dung dịch đối chiếu và đánh giá sắc độ: Trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, tiến hành như mô tả ở phương pháp A.

Bảng 12.9.1- Hỗn hợp chuẩn để lập đường chuẩn⁽²⁾

Thành phần hỗn hợp	Tỷ lệ thành phần (phần trăm kl/kl)		
	Tương ứng với chiều dài chuỗi ⁽³⁾	Đẳng nhiệt	Chương trình nhiệt độ tuyến tính
Methyl laurat	12,0	5	10
Methyl myristat	14,0	5	15
Methyl palmitat	16,0	10	15
Methyl stearat	18,0	20	20
Methyl arachidat	20,0	40	20
Methyl oleat	18,3	20	20

Bảng 12.9.2- Hỗn hợp chuẩn để lập đường chuẩn⁽²⁾

Thành phần hỗn hợp	Tỷ lệ thành phần (phần trăm kl/kl)		
	Tương ứng với chiều dài chuỗi ⁽³⁾	Đẳng nhiệt	Chương trình nhiệt độ tuyến tính
Methyl caproat	6,0	5	10
Methyl caprylat	8,0	5	35
Methyl caprat	10,0	10	35
Methyl laurat	12,0	20	10
Methyl myristat	14,0	40	10

Bảng 12.9.3- Hỗn hợp chuẩn để lập đường chuẩn⁽²⁾

Thành phần hỗn hợp	Tỷ lệ thành phần (phần trăm kl/kl)		
	Tương ứng với chiều dài chuỗi ⁽³⁾	Đẳng nhiệt	Chương trình nhiệt độ tuyến tính
Methyl myristat	14,0	5	15
Methyl palmitat	16,0	10	15
Methyl stearat	18,0	15	20
Methyl arachidat	20,0	20	15
Methyl oleat	18,3	20	15
Methyl eicosenoat	20,2	10	10
Methyl behenat	22,0	10	5
Methyl lignocerot	24,0	10	5

(1): Methyl ester của acid béo phải đạt quy định về chất chuẩn của Dược điển Việt Nam.

(2): Áp dụng cho hệ thống sắc ký khí với cột mao quản và buồng tiêm chia dòng, các thành phần có mạch dài nhất của hỗn hợp mẫu thử cần được thêm vào hỗn hợp chuẩn khi tiến hành phân tích định lượng sử dụng đường chuẩn.

(3): Giá trị được tính dựa trên đường chuẩn với cột macrogol 20 000.

12.10 XÁC ĐỊNH CÁC CHẤT CHIẾT ĐƯỢC TRONG DƯỢC LIỆU

Phương pháp xác định các chất chiết được bằng nước

Phương pháp chiết lạnh: Nếu không có chỉ dẫn đặc biệt trong chuyên luận riêng, cân chính xác khoảng 4,000 g bột dược liệu có cỡ bột nửa thô cho vào trong bình nón 250 ml đến 300 ml. Thêm chính xác 100,0 ml nước, đậy kín, ngâm lạnh, thỉnh thoảng lắc trong 6 giờ đầu, sau đó để yên 18 giờ. Lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 20 ml dịch lọc cho vào một cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến gần khô. Sấy cân ở 105 °C trong 3 giờ, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân

nhanh để xác định khối lượng cần sau khi sấy, tính phần trăm lượng chất chiết được bằng nước theo dược liệu khô.

Phương pháp chiết nóng: Nếu không có chỉ dẫn đặc biệt trong chuyên luận riêng, cân chính xác khoảng 2,000 g đến 4,000 g bột dược liệu có cỡ bột nửa thô cho vào bình nón 100 ml hoặc 250 ml. Thêm chính xác 50,0 ml hoặc 100,0 ml nước, đậy kín, cân xác định khối lượng, để yên 1 giờ, sau đó đun sôi nhẹ dưới hồi lưu 1 giờ, để nguội, lấy bình nón ra, đậy kín, cân để xác định lại khối lượng, dùng nước để bổ sung phần khối lượng bị giảm, lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc vào cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến gần khô, cân thu được sấy ở 105 °C trong 3 giờ, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 phút, cân nhanh để xác định khối lượng cần. Tính phần trăm lượng chất chiết được bằng nước theo dược liệu khô.

Phương pháp xác định các chất chiết được bằng ethanol hoặc methanol

Dùng các phương pháp tương tự như phương pháp xác định các chất chiết được bằng nước. Tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng mà dùng ethanol hoặc methanol có nồng độ thích hợp để thay nước làm dung môi chiết. Với phương pháp chiết nóng thì nên đun trong cách thủy nếu dung môi chiết có độ sôi thấp.

12.11 XÁC ĐỊNH TẠP CHẤT LẤN TRONG DƯỢC LIỆU

Tạp chất lẫn trong dược liệu bao gồm tất cả các chất ngoài quy định của dược liệu đó như: Đất, đá, rơm rạ, cây cỏ khác, các bộ phận khác của cây không quy định làm dược liệu, xác côn trùng...

Cách xác định

Cân một lượng mẫu vừa đủ đã được chỉ dẫn trong chuyên luận, dàn mỏng trên tờ giấy, quan sát bằng mắt thường hoặc kính lúp, khi cần có thể dùng rây để phân tách tạp chất và dược liệu.

Cân phần tạp chất và tính phần trăm như sau:

$$x\% = \frac{a}{p} \times 100$$

Trong đó:

a là khối lượng tạp chất tính bằng gam;

p là khối lượng mẫu thử tính bằng gam.

Ghi chú:

1. Trong một số trường hợp nếu tạp chất rất giống với thuốc, có thể phải làm các phản ứng định tính hoá học, phương pháp vật lý hoặc dùng kính hiển vi để phát hiện tạp chất. Tỷ lệ tạp chất được tính bao gồm cả tạp chất được phát hiện bằng phương pháp này.

2. Lượng mẫu lấy để thử nếu chuyên luận riêng không quy định thì lấy như sau:

Hạt và quả rất nhỏ (như hạt Mã đề): 10 g.

Hạt và quả nhỏ: 20 g.

Dược liệu thái thành lát: 50 g.

12.12 XÁC ĐỊNH TỶ LỆ VỤN NÁT CỦA DƯỢC LIỆU

Cân một lượng dược liệu nhất định (p gam) đã được loại tạp chất. Rây qua rây có số quy định theo chuyên luận riêng. Cân toàn bộ phần đã lọt qua rây (a gam). Tính tỷ lệ vụn nát ($X\%$) (từ kết quả trung bình của ba lần thực hiện) theo công thức:

$$X\% = \frac{a}{p} \times 100$$

Ghi chú:

Lượng dược liệu lấy để thử (tùy theo bản chất của dược liệu) từ 100 g đến 200 g.

Đối với dược liệu mỏng manh thì chỉ lắc nhẹ, tránh làm vụn nát thêm.

Phân bụi và bột vụn không phân biệt được bằng mắt thường được tính vào mục tạp chất.

12.13 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NƯỚC BẰNG PHƯƠNG PHÁP CẮT VỚI DUNG MÔI

Dụng cụ

Dụng cụ xác định hàm lượng nước (Hình 12.13) gồm có bình cầu (A) nối qua ống (D) với ống hình trụ (B); ống này gắn với ống hứng chia độ (E) ở phía dưới và lắp với ống sinh hàn ngược (C) ở phía trên. Ống hứng (E) được chia độ đến 0,1 ml để cho sai số của phép đọc thể tích không vượt quá 0,05 ml. Nguồn nhiệt thích hợp là bếp điện có biến trở hoặc đun cách dầu.

Cách tiến hành

Rửa sạch ống hứng và ống sinh hàn với nước rồi làm khô. Thêm 200 ml *toluen* (TT) và khoảng 2 ml nước vào bình cầu khô. Cắt khoảng 2 giờ, để nguội trong 30 phút rồi đọc thể tích nước cất được ở ống hứng (V_1), chính xác đến 0,05 ml.

Thêm vào bình cầu một lượng mẫu thử đã cân chính xác tới 0,01 g có chứa khoảng 2 ml đến 3 ml nước. Thêm vài mảnh đá bọt. Đun nóng nhẹ trong 15 phút; khi *toluen* bắt đầu sôi thì điều chỉnh nguồn cấp nhiệt để cắt với tốc độ khoảng 2 giọt dịch cất trong 1 giây. Khi đã cất được phần lớn nước sang ống hứng thì nâng tốc độ cất lên 4 giọt dịch cất trong 1 giây. Tiếp tục cất cho đến khi mực nước cất được trong ống hứng không tăng lên nữa, dùng 5 ml đến 10 ml *toluen* (TT) rửa thành trong ống sinh hàn rồi cất thêm 5 phút

nữa. Sau đó, tách bộ cất khỏi nguồn cấp nhiệt, để cho ống hứng nguội đến nhiệt độ phòng. Nếu có những giọt nước còn đọng trên thành ống sinh hàn thì dùng 5 ml *toluen* (TT) để rửa kéo xuống. Khi lớp nước và lớp *toluen* đã được phân tách hoàn toàn, đọc thể tích nước trong ống hứng (V_2). Tính tỷ lệ phần trăm nước trong mẫu thử theo công thức sau:

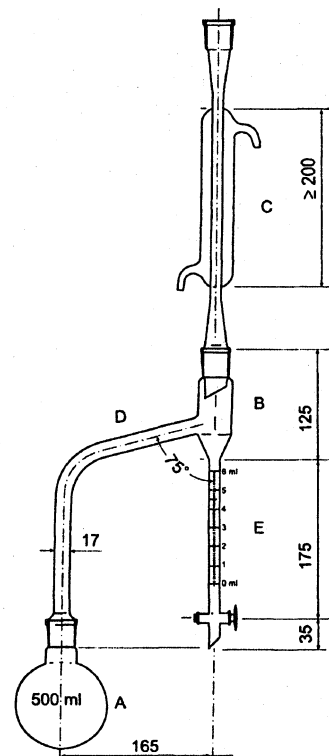
$$\frac{100 (V_2 - V_1)}{m}$$

Trong đó:

V_1 là số ml nước cất được sau lần cất đầu;

V_2 là số ml nước cất được sau hai lần cất;

m là số g mẫu đã cân đem thử.



Hình 12.13- Dụng cụ xác định hàm lượng nước bằng phương pháp cất với dung môi.
Kích thước tính bằng mm

12.15 CÂN KHÔ CỦA CÁC CHẤT CHIẾT DƯỢC TRONG DƯỢC LIỆU

Cho nhanh 2,00 g hoặc 2,0 ml mẫu thử vào một cốc đáy bằng có đường kính khoảng 50 mm và chiều cao khoảng 30 mm. Cọ đến khô cạn trên cách thủy và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 3 giờ. Lấy ra để nguội trong bình hút ẩm có chất hút ẩm phosphor pentoxyl hoặc silica gel và cân. Tính kết quả theo phần trăm khối lượng hoặc theo tỷ lệ gam trên lít.

12.16 MẤT KHỐI LƯỢNG DO LÀM KHÔ CỦA CÁC CHẤT CHIẾT ĐƯỢC TRONG DƯỢC LIỆU

Cân nhanh 0,50 g mẫu thử đã nghiền thành bột mịn vào một cốc đáy bằng có đường kính khoảng 50 mm và chiều cao khoảng 30 mm. Sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 3 giờ. Lấy ra để nguội trong bình hút ẩm có chất hút ẩm phosphor pentoxyl hoặc silica gel và cân. Tính toán kết quả theo phần trăm khối lượng.

12.17 DƯ LƯỢNG HÓA CHẤT BẢO VỆ THỰC VẬT

Định nghĩa

Hóa chất bảo vệ thực vật là những chất hay hỗn hợp nhiều chất được sử dụng nhằm ngăn cản, tiêu diệt hoặc kiểm soát dịch hại đối với các loài cây hoặc động vật làm thuốc mà những chất này có thể gây tổn hại hoặc ảnh hưởng đến quá trình sản xuất, chế biến, bảo quản, vận chuyển hoặc buôn bán dược liệu. Khái niệm này bao gồm cả các chất điều hòa sinh trưởng thực vật, các chất làm rụng lá hoặc làm khô, hoặc bất cứ chất nào được sử dụng trước hoặc sau thu hoạch để bảo quản dược liệu khỏi bị hỏng trong quá trình bảo quản hoặc vận chuyển.

Giới hạn

Dược liệu được kiểm tra ít nhất phải đáp ứng yêu cầu về giới hạn ghi trong bảng 12.17.1 (trừ những chỉ dẫn trong chuyên luận riêng).

Đối với hóa chất bảo vệ thực vật không liệt kê trong bảng 12.17.1, giới hạn (mg/kg) của nó có thể được tính theo công thức sau:

$$\frac{ADI \times M}{MDD \times 100}$$

Trong đó:

ADI (mg/kg) là liều có thể đưa vào cơ thể mỗi ngày theo quy định của *Tổ chức Lương thực Thế giới và Tổ chức Y tế thế giới (Codex Alimentarius, FAO – WHO)*;

M là thể trọng của người, bằng 60 kg;

MDD là liều dùng dược liệu hàng ngày, tính bằng kg.

Bảng 12.17.1

Hợp chất	Giới hạn (mg/kg)
Alaclor	0,02
Tổng aldrin và dieldrin	0,05
Azinphos-methyl	1,0
Bromopropylat	3,0
Tổng cis – clordan, trans – clordan và oxycclordan	0,05
Clorfenvinphos	0,5
Cypermethrin và các đồng phân	1,0
Tổng o,p' – DDT, p,p' – DDT, p,p' – DDE	1,0

và p,p' – TDE	
Deltamethrin	0,5
Diazinon	0,5
Diclorvos	1,0
Dithiocarbamat (tính theo CS ₂)	2,0
Tổng α - Endosulfan, β - Endosulfan và Endosulfan sulfat	3,0
Endrin	0,05
Ethion	2,0
Fenitrothion	0,5
Fenvalerat	1,5
Fonofos	0,05
Tổng Heptaclor và Heptaclor epoxid	0,05
Hexaclorobenzen	0,1
Các đồng phân hexaclorocyclohexan, trừ đồng phân γ	0,3
Lindan (γ-Hexaclorocyclohexan)	0,6
Malathion	1,0
Methidathion	0,2
Parathion	0,5
Parathion – methyl	0,2
Permethrin	1,0
Phosalon	0,1
Piperonyl butoxid	3,0
Pirimiphos – methyl	4,0
Tổng pyrethrin	3,0
Tổng quintozen, pentachloroanalin và methyl pentachlorophenyl sulfid	1,0

Lấy mẫu

Phương pháp:

Bao bì ít hơn 1 kg, trộn đều và lấy đủ lượng mẫu để phân tích. Bao bì từ 1 kg đến 5 kg, lấy những lượng tương đương và đủ để phân tích ở 3 vị trí: phía trên, giữa và cuối bao bì. Trộn đều và lấy lượng mẫu đủ để phân tích. Bao bì lớn hơn 5 kg, lấy không ít hơn 250 g ở 3 vị trí: phía trên, giữa và cuối bao bì, trộn đều và lấy một lượng mẫu đủ để phân tích.

Số mẫu:

Nếu như số bao bì (n) ít hơn hoặc bằng 3, mỗi bao bì lấy một lượng mẫu theo phương pháp nêu trên. Nếu số bao bì lớn hơn 3, số mẫu cần lấy sẽ là $\sqrt{n} + 1$, làm tròn số đến đơn vị số nguyên gần nhất.

Mẫu cần được phân tích ngay để tránh hóa chất bảo vệ thực vật có thể bị phân hủy. Nếu như không tiến hành phân tích ngay được, mẫu phải được bảo quản kín trong bao bì loại thích hợp dùng để đựng thực phẩm, ở nhiệt độ dưới 0 °C và tránh ánh sáng.

Thuốc thử

Tất cả các thuốc thử và dung môi không được nhiễm hóa chất bảo vệ thực vật. Nếu có thể, thường phải sử dụng các dung môi loại chất lượng đặc biệt, nếu không, các dung môi sử dụng cần phải mới được cất lại trong dụng cụ hoàn toàn bằng thủy tinh. Trong bất

cứ trường hợp nào, cũng cần phải thực hiện kiểm tra mẫu trắng.

Dụng cụ

Rửa sạch dụng cụ, đặc biệt đối với dụng cụ thủy tinh để đảm bảo chúng sạch không có hóa chất bảo vệ thực vật, ví dụ ngâm trong dung dịch xà phòng không có phosphat ít nhất 16 giờ, rửa bằng nước cất nhiều lần đến sạch, tráng rửa bằng acetone và hexan hoặc heptan.

Phân tích định tính và định lượng hóa chất bảo vệ thực vật tồn dư

Quy trình phân tích áp dụng phải được kiểm định và chuẩn hóa theo quy chế hiện hành, đặc biệt, nó phải đáp ứng các yêu cầu dưới đây:

- (a) Phương pháp lựa chọn, đặc biệt các bước xử lý làm sạch chất phân tích phải thích hợp đối với chất cần phân tích và không bị ảnh hưởng bởi các chất khác chiết cùng; giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng được xác định đối với mỗi hóa chất bảo vệ thực vật và dựa trên nền của mẫu phân tích.
- (b) Tỷ lệ thu hồi đối với mỗi hóa chất bảo vệ thực vật phải nằm trong khoảng 70 % đến 110 %.
- (c) Độ lặp lại của phương pháp không được thấp hơn các giá trị ghi trong bảng 12.17.2.
- (d) Độ tái lập của phương pháp không được thấp hơn các giá trị ghi trong bảng 12.17.2.
- (e) Nồng độ của các dung dịch thử và đối chiếu và các thông số phân tích cài đặt trên máy phải tương ứng với đáp ứng tuyến tính của detector phân tích.

Bảng 12.17.2

Nồng độ chất phân tích (mg/kg)	Độ lặp lại ($\pm$ mg/kg)	Độ tái lập ($\pm$ mg/kg)
0,010	0,005	0,01
0,100	0,025	0,05
1,000	0,125	0,25

Ghi chú:

Độ lặp lại (Repeatability): Độ chụm trong điều kiện các kết quả thử nghiệm độc lập với cùng một phương pháp, trên những mẫu giống hệt nhau, trong cùng phòng thí nghiệm, bởi cùng người thao tác, sử dụng cùng một thiết bị, trong khoảng thời gian ngắn.

Độ tái lập (Reproducibility): Độ chụm trong điều kiện các kết quả thử nghiệm nhận được bởi cùng một phương pháp, trên các mẫu thử giống hệt nhau trong các phòng thí nghiệm khác nhau, với những người thao tác khác nhau, sử dụng thiết bị khác nhau.

Phương pháp phân tích dưới đây nhằm cung cấp thông tin để tham khảo

Xác định dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật nhóm clor hữu cơ, nhóm phosphor hữu cơ và nhóm pyrethroid

Phương pháp dưới đây có thể được sử dụng. Tùy theo chất cần phân tích, nếu cần thiết có thể thay đổi quy trình phân tích mô tả dưới đây. Trong mọi trường hợp, đều có thể sử dụng bổ sung một loại cột khác có độ phân cực khác hoặc phương pháp phát hiện khác (ví dụ detector khối phổ) hoặc phương pháp phân tích khác (ví dụ phương pháp hóa miễn dịch) để khẳng định kết quả thu được.

1. Chiết

Thêm 100 ml *acetone* (TT) vào 10 g mẫu thử đã được làm thành bột thô và để yên 20 phút. Thêm 1 ml dung dịch có chứa *carbophenothion* 1,8 μ g/ml trong *toluene* (TT). Làm đồng nhất trong 3 phút, sử dụng máy khuấy trộn tốc độ cao. Lọc và rửa cốc hai lần, mỗi lần với 25 ml *acetone* (TT). Gộp dịch chiết và dịch rửa, làm bay hơi dung môi ở nhiệt độ không quá 40 °C trong máy cất quay cho tới khi dung môi bị loại hầu như hoàn toàn. Thêm vào căn vial mililít *toluene* (TT), tiếp tục làm bay hơi đến khi dung môi bị loại bỏ hầu như hoàn toàn. Hòa tan căn trong 8 ml *toluene* (TT). Lọc qua màng lọc 45 μ m, rửa bình, dụng cụ lọc và làm vừa đủ 10 ml bằng *toluene* (TT) (dung dịch A).

2. Làm sạch

2.1. Hóa chất bảo vệ thực vật nhóm clor hữu cơ, nhóm phosphor hữu cơ và nhóm pyrethroid

Tiến hành phương pháp sắc ký rây phân tử, Phụ lục 5.5.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,30 m $\times$ 7,8 mm), pha tĩnh *copolymer styren - divinylbenzen* (5 μ m) (TT), sử dụng *toluene* (TT) làm pha động với tốc độ dòng 1 ml/min.

Hiệu năng của cột: Tiêm 100 μ l dung dịch có chứa *đỏ methyl* 0,05 % (kl/tt) (TT) và *oracet lam 2 R* 0,05 % (kl/tt) (TT) trong *toluene* (TT) vào hệ thống sắc ký. Cột chỉ thích hợp khi màu của dịch rửa giải thay đổi từ màu cam sang màu xanh da trời ở thể tích rửa giải 10,3 ml. Nếu cần chuẩn hóa cột, có thể sử dụng dung dịch pha trong *toluene* có chứa chất phân tích ở nồng độ thích hợp là chất có phân tử lượng thấp nhất (ví dụ diclorvos) và chất có phân tử lượng cao nhất (ví dụ deltamethrin). Xác định đoạn dung môi rửa giải có chứa cả hai chất.

Làm sạch dung dịch thử: Tiêm một thể tích xác định dung dịch A (100 μ l đến 500 μ l) vào hệ thống và tiến hành chạy sắc ký. Thu đoạn dung môi rửa giải đã xác định ở trên (dung dịch B). Các chất nhóm phosphor hữu cơ thường được rửa giải ở đoạn từ 8,8 ml đến 10,9 ml. Các chất nhóm clor hữu cơ và nhóm pyrethroid thường được rửa giải ở đoạn 8,5 ml đến 10,3 ml.

2.2. Hóa chất bảo vệ thực vật nhóm clor hữu cơ và nhóm pyrethroid

Cho một ít bông không có chất béo vào cột sắc ký (0,10 m $\times$ 5 mm), sau đó cho 0,5 g *silica gel* đã được

xử lý vào cột. Xử lý silica gel như sau: Sấy *silica gel* dùng cho sắc ký trong tủ sấy ở 150 °C trong 4 giờ. Để nguội và thêm vào đó từng giọt một lượng nước tương ứng với 1,5 % khối lượng silica gel đem sấy. Lắc mạnh cho đến khi không còn các cục vón, tiếp tục lắc trên máy lắc cơ học trong 2 giờ. Luyện cột bằng 1,5 ml *hexan* (TT). Cột loại nhồi sẵn có chứa 500 mg silica gel loại thích hợp có thể được sử dụng, miễn là loại cột này đã được kiểm tra và chuẩn hóa trước.

Đuôi dung môi trong dung dịch B dưới luồng khí *heli* (TT) hoặc khí *nitrogen không có oxy* (TT) tới khi dung môi hầu như bị loại hoàn toàn, hòa tan cần trong một thể tích *toluen* (TT) thích hợp (từ 200 µl đến 1 ml tùy theo thể tích dung dịch A đã tiêm ở giai đoạn thực hiện sắc ký rây phân tử). Chuyển toàn bộ dung dịch lên cột và tiến hành sắc ký, sử dụng 1,8 ml *toluen* (TT) làm pha động. Thu hồi dịch rửa giải (dung dịch C).

3. Định lượng

3.1. Hóa chất bảo vệ thực vật nhóm phosphor hữu cơ

Tiến hành phân tích sắc ký khí (Phụ lục 5.2), sử dụng *carbophenothion* (TT) làm nội chuẩn. Nếu cần thiết, có thể sử dụng một chất nội chuẩn thứ hai để phân biệt khi có ảnh hưởng với pic của *carbophenothion*.

Dung dịch thử: Làm bay hơi dung dịch B dưới luồng khí *heli* (TT) gần tới khô hoàn toàn và hòa tan cần trong 100 µl *toluen* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Pha ít nhất 3 dung dịch có chứa các hóa chất bảo vệ thực vật cần xác định và *carbophenothion* ở nồng độ thích hợp để thiết lập đường chuẩn.

Điều kiện sắc ký:

Cột: Cột silica nung chảy (30 m × 0,32 mm) phủ lớp pha tĩnh *poly(dimethyl)siloxan* (TT) dày 0,25 µm.

Khí mang *hydrogen* (TT), các khí mang khác như *heli* (TT) hoặc *nitrogen* (TT) cũng có thể sử dụng được, miễn là hệ thống sắc ký được chuẩn hóa một cách phù hợp.

Detector ion hóa ngọn lửa phosphor - nitrogen hoặc detector quang kế ngọn lửa.

Chương trình nhiệt độ buồng cột: Duy trì nhiệt độ 80 °C trong 1 phút, tăng 30 °C/min tới 150 °C, duy trì trong 3 phút, tăng 4 °C/min tới 280 °C và duy trì trong 1 phút. Nhiệt độ cổng tiêm 250 °C, nhiệt độ detector 275 °C.

Thế tích tiêm: Tiêm một thể tích xác định các dung dịch. Sắc ký đồ thu được với điều kiện mô tả trên sẽ cho kết quả thời gian lưu tương đối xấp xỉ các giá trị liệt kê ở Bảng 12.17.3.

Tính kết quả dựa vào diện tích pic và nồng độ của các dung dịch.

3.2. Hóa chất bảo vệ thực vật nhóm clor hữu cơ và pyrethroid

Tiến hành phân tích sắc ký khí (Phụ lục 5.2), sử dụng *carbophenothion* (TT) làm nội chuẩn. Nếu cần thiết,

có thể sử dụng một chất nội chuẩn thứ hai để phân biệt khi có ảnh hưởng với pic của *carbophenothion*.

Dung dịch thử:

Làm bay hơi dung dịch C dưới luồng khí *heli* (TT) hoặc khí *nitrogen không có oxy* (TT) gần tới khô hoàn toàn và hòa tan cần trong 500 µl *toluen* (TT).

Dung dịch đối chiếu:

Pha ít nhất 3 dung dịch có chứa các hóa chất bảo vệ thực vật cần xác định và *carbophenothion* ở nồng độ thích hợp để thiết lập đường chuẩn.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy (30 m × 0,32 mm) phủ lớp pha tĩnh *poly(dimethyl)(diphenyl)siloxan* (TT) dày 0,25 µm.

Khí mang *hydrogen* (TT), các khí mang khác như *heli* (TT) hoặc *nitrogen* (TT) cũng có thể sử dụng được, miễn là hệ thống sắc ký được chuẩn hóa một cách phù hợp.

Detector cộng kết điện tử.

Chương trình nhiệt độ buồng cột: Duy trì nhiệt độ 80 °C trong 1 phút, tăng 30 °C/min tới 150 °C, duy trì trong 3 phút, tăng 4 °C/min tới 280 °C và duy trì trong 1 phút. Nhiệt độ cổng tiêm 250 °C, nhiệt độ detector 275 °C.

Thế tích tiêm: Tiêm một thể tích xác định các dung dịch. Sắc ký đồ thu được với điều kiện mô tả trên sẽ cho kết quả thời gian lưu tương đối xấp xỉ các giá trị liệt kê ở Bảng 12.17.4.

Bảng 12.17.3

STT	Hợp chất	Thời gian lưu tương đối
1	Diclorvos	0,20
2	Fonofos	0,50
3	Diazinon	0,52
4	Parathion - methyl	0,59
5	Clorpyrifos - methyl	0,60
6	Pirimiphos - methyl	0,66
7	Malathion	0,67
8	Parathion	0,69
9	Clorpyrifos	0,70
10	Methidathion	0,78
11	Ethion	0,96
12	Carbophenothion	1,00
13	Azinphos – methyl	1,17
14	Phosalon	1,18

Bảng 12.17.4

STT	Hợp chất	Thời gian lưu tương đối
1	α - Hexaclorocyclohexan	0,44
2	Hexaclorbenzen	0,45
3	β - Hexaclorocyclohexan	0,49
4	Lindan	0,49
5	δ - Hexaclorocyclohexan	0,54
6	ϵ - Hexaclorocyclohexan	0,56
7	Heptaclor	0,61
8	Aldrin	0,68
9	cis - Heptaclor epoxid	0,76
10	o,p'- DDE	0,81
11	α - Endosulfan	0,82
12	Dieldrin	0,87
13	p,p'- DDE	0,87
14	o,p'- DDD	0,89
15	Endrin	0,91
16	β - Endosulfan	0,92
17	o,p'- DDT	0,95
18	Carbophenothion	1,00
19	p,p'- DDT	1,02
20	cis - Permethrin	1,29
21	trans - Permethrin	1,31
22	Cypermethrin	1,40
23	Fenvalerat	1,47; 1,49
24	Deltamethrin	1,54

12.18 ĐỊNH TÍNH DƯỢC LIỆU VÀ CÁC CHẾ PHẨM BẰNG KÍNH HIỂN VI

Định tính bằng kính hiển vi là phương pháp sử dụng kính hiển vi để nhận biết các đặc điểm của các mô, tế bào hoặc các chất chứa trong tế bào, ở các lát cắt, bột, các mô đã được làm rã ra, hoặc các tiêu bản bề mặt của dược liệu và các chế phẩm. Việc chọn mẫu đại diện để định tính và sự chuẩn bị tiêu bản phải phù hợp với những yêu cầu về định tính của mỗi loại mẫu cần kiểm tra. Các tiêu bản của các chế phẩm được chuẩn bị sau những xử lý thích hợp tùy theo các dạng chế phẩm khác nhau.

1. Tiêu bản dược liệu

Lát cắt ngang hoặc dọc

Chọn lấy một mẫu dược liệu thích hợp sao cho có đủ các đặc điểm thực vật như sau:

Thân và rễ nhỏ: Lấy một đoạn có đủ mặt cắt ngang.

Thân, rễ to và rễ củ: Lấy một phần có mặt cắt ngang hình quạt (có cấu tạo từ biểu bì đến tâm).

Vỏ thân: Lấy một phần cắt ngang hình chữ nhật (có cấu tạo từ bần đến tầng phát sinh libe-gỗ).

Lá: Lấy một đoạn gân giữa có dính mỗi bên một ít phiến lá.

Hoa: Bóc biểu bì hay cắt ngang từng bộ phận.

Quả và hạt nhỏ: Lấy nguyên cả quả và hạt.

Quả và hạt to: Lấy một phần, chọn vị trí cắt có đủ các đặc điểm.

Dùng lưỡi dao cạo, ống cắt vi phẫu cầm tay hay máy cắt vi phẫu cắt mẫu dược liệu thành từng lát mỏng 10 μm đến 20 μm . Cũng có thể kẹp mẫu trong parafin rắn, củ khoai lang, củ đậu v.v... để cắt. Trừ chỉ dẫn trong chuyên luận riêng, lát cắt có thể được soi ngay hoặc phải qua các bước xử lý sau đây trước khi đem soi kính:

Ngâm các lát cắt vào *dung dịch cloramin T 5 % (TT)* đến khi lát cắt trắng ra thì rửa sạch cloramin bằng nước.

Ngâm lát cắt vào *thuốc thử cloral hydrat (TT)* khoảng 10 phút rồi rửa sạch bằng nước cất.

Ngâm lát cắt trong *dung dịch acid acetic 1 % (TT)* trong khoảng 2 phút rồi rửa thật kỹ lại bằng nước cất.

Ngâm lát cắt trong *dung dịch lục iod (TT)* hoặc *xanh methylen (TT)* trong khoảng từ 1 giây đến 5 giây, rửa nhanh bằng *ethanol 60 % (TT)* rồi rửa lại bằng nước cất.

Ngâm lát cắt trong *dung dịch carmin 40 (TT)* tới khi thấy màu bắt rõ thì rửa bằng nước cất.

Tiêu bản bột

Lấy một lượng nhỏ bột (qua rây có kích thước mắt rây khoảng 250 μm), cho vào một giọt dung dịch soi (như nước, glycerin, cloral hydrat hay thuốc thử khác tùy thuộc vào mục đích soi) đã có sẵn trên lam kính, dùng kim mũi mác dàn đều cho bột thấm dung dịch, đặt lam kính, di nhẹ lam kính rồi quan sát dưới kính.

Tiêu bản bề mặt

Làm ẩm và làm mềm mẫu (nếu cần thiết), cắt lấy 2 mẫu nhỏ khoảng 4 mm^2 (một mẫu để soi và một mẫu để đối chiếu) hoặc tước lấy một đoạn biểu bì, đặt lên một lam kính, thêm thuốc thử thích hợp rồi soi kính.

Tiêu bản mô đã làm rã

Nếu mẫu thử là mô mềm hoặc chỉ có ít, lẻ tẻ các mô gỗ thì có thể dùng phương pháp kali hydroxyd. Nếu mẫu thử cứng, có nhiều mô gỗ hoặc các mô gỗ tụ lại thành bó lớn thì dùng phương pháp acid cromic - nitric hay phương pháp kali clorat. Mẫu thử cần được cắt thành các đoạn dài 5 mm, đường kính 2 mm hoặc những mẫu nhỏ dày khoảng 1 mm trước khi làm rã.

a. Phương pháp kali hydroxyd: Cho mẫu thử vào một ống nghiệm, thêm *dung dịch kali hydroxyd 5 % (TT)* vừa đủ, đun nóng nhẹ (hoặc ngâm nóng trong cách thủy) đến khi ép bằng đũa thủy tinh thì mẫu bị vỡ ra. Gạn bỏ dung dịch kiềm, rửa sạch mẫu bằng nước rồi

đặt mẫu lên lam kính. Dùng kim phẫu thuật xé mẫu ra rồi quan sát trong *glycerin* (TT).

b. Phương pháp acid cromic-nitric: Cho mẫu thử vào một ống nghiệm, thêm vừa đủ *thuốc thử acid cromic-nitric* (TT), ngâm đến khi ép bằng đũa thủy tinh thì mẫu bị vỡ ra. Gạn bỏ dung dịch acid, rửa bằng nước rồi làm tiếp như phương pháp a.

c. Phương pháp kali clorat: Cho mẫu thử vào trong ống nghiệm, thêm *dung dịch acid nitric 50 %* (TT) và một ít bột *kali clorat* (TT), đun nóng đến khi giảm sủi bọt. Thêm một lượng nhỏ kali clorat đúng lúc để duy trì sủi bọt nhẹ cho đến khi mẫu bị vỡ ra khi ép bằng đũa thủy tinh. Gạn bỏ dung dịch acid, rửa sạch mẫu bằng nước rồi làm tiếp như phương pháp a.

Tiêu bản phần hoa và bào tử

Nghiền phần hoa, bao phấn, hoa nhỏ hoặc túi bào tử (được làm mềm trong *acid acetic* băng (TT) bằng đũa thủy tinh và lọc vào một ống ly tâm, ly tâm rồi bỏ phần nước. Thêm vào cần 1 ml đến 3 ml hỗn hợp mới pha của *anhydrid acetic - acid sulfuric* (9 : 1), đun nóng 2 phút đến 3 phút trên cách thủy, ly tâm. Rửa cần bằng nước 2 lần, thêm 3 giọt đến 4 giọt *dung dịch glycerin 50 %* (TT) và *dung dịch phenol 1 %* (TT), làm tiêu bản trong fuchsin - glycerin - gelatin và soi. Có thể dùng *cloral hydrat* (TT) thay cho fuchsin - glycerin - gelatin để soi.

2. Tiêu bản của chế phẩm đông được bao gồm cả thuốc bột

Để định tính các chế phẩm đông được bao gồm cả thuốc bột, chuẩn bị tiêu bản như đã mô tả ở mục "Tiêu bản bột" ở phần 1. Lượng mẫu lấy như dưới đây được nghiền thành bột và lấy một lượng bột thích hợp, thêm từng giọt thuốc thử theo yêu cầu, khuấy kỹ để làm tách rời các tế bào hay tổ chức bị dính.

Thuốc bột hoặc bột của viên nang: Lấy một lượng bột thích hợp, nghiền nhỏ.

Viên nén: Lấy 2 đến 3 viên;

Hoàn hồ-nước, hoàn hồ, hoàn mật ong (loại bỏ lớp vỏ bao): Lấy vài viên.

Thuốc ngậm: Lấy 1 đến 2 viên.

Với hoàn mật ong có thể cắt thành lát mỏng và lấy một lượng mẫu thích hợp hoặc lấy một lượng cần nhỏ sau khi loại bỏ mật ong và nước để làm tiêu bản.

3. Đo tế bào và các thành phần của tế bào

Để đo kích thước tế bào và các thành phần của tế bào dưới kính hiển vi, có thể dùng trắc vi thị kính. Trước hết, lắp trắc vi thị kính vào thị kính, sau đó định cỡ bằng bàn soi trắc vi kế. Để định cỡ, xoay thị kính và di chuyển bàn soi để cho các vạch trên 2 thang chia độ song song với những vạch "O" bên trái của chúng trùng nhau, sau đó tìm những vạch khác ở bên phải. Giá trị (μm) của một vạch trắc vi thị kính có thể được tính toán trên cơ sở những vạch chia của 2 thang chia

độ giữa những dòng trùng nhau. Để đo mẫu, đem nhân số vạch đo được của trắc vi thị kính với giá trị (μm) của mỗi vạch. Nói chung, phép đo được thực hiện dưới một vật kính có độ phóng đại lớn, tuy nhiên, để đo những kích thước lớn hơn của sợi, lông v.v... thì nên dùng vật kính có độ phóng đại nhỏ. Ghi lại các giá trị cực đại và cực tiểu (μm). Cho phép có một vài giá trị cao hơn hay thấp hơn chút ít so với yêu cầu quy định trong chuyên luận dược điển.

4. Phát hiện màng tế bào

Màng tế bào hóa gỗ: Thêm 1 giọt đến 2 giọt *thuốc thử phloroglucinol* (TT), để yên một lúc, thêm 1 giọt *acid hydrochloric* (TT), vùng hóa gỗ xuất hiện màu đỏ tía.

Màng tế bào hóa bản hay hóa cutin: Thêm *thuốc thử Sudan III* (TT), để yên một lúc hay làm ấm nhẹ, xuất hiện màu đỏ cam hay màu đỏ.

Màng cellulose: Thêm *thuốc thử kẽm clorid-iod*, hoặc lúc đầu thêm *dung dịch iod 1 %* (TT) để làm ẩm, để yên 1 phút rồi thêm *dung dịch acid sulfuric* [33 ml *acid sulfuric* (TT) pha với nước cất vừa đủ 50 ml], sẽ xuất hiện màu xanh lam hay xanh tím.

Màng tế bào silic: Không có sự thay đổi gì khi thêm *acid sulfuric* (TT).

5. Phát hiện các thành phần của tế bào

Tinh bột: Thêm *dung dịch iod* (TT), sẽ xuất hiện màu xanh lam hay xanh tím.

Đặt mẫu trong *dung dịch glycerin-acid acetic*, quan sát dưới kính hiển vi phân cực thấy hiện tượng phân cực chéo của các hạt tinh bột, hiện tượng này mất đi ở những hạt tinh bột bị hóa hồ.

Hạt aleuron: Thêm *dung dịch iod* (TT), sẽ xuất hiện màu nâu hay màu vàng nâu.

Thêm *dung dịch thủy ngân (II) nitrat* (TT), xuất hiện màu đỏ gạch. Nếu dược liệu có dầu béo, phải loại dầu béo bằng *ether* (TT) hay *ether dầu hòa* (TT) trước khi thử.

Dầu béo, tinh dầu hay nhựa:

Thêm *dung dịch Sudan III* (TT), sẽ xuất hiện màu đỏ da cam, màu đỏ hoặc đỏ tía.

Trong *ethanol 90 %* (TT), dầu béo không hòa tan (trừ dầu thầu dầu và dầu bông), trong khi đó tinh dầu thì hòa tan được.

Inulin: Thêm *dung dịch 1-naphthol 10 % trong ethanol* (TT), sau đó thêm *acid sulfuric* (TT), các tinh thể inulin chuyển sang màu đỏ tía và hòa tan nhanh.

Tinh thể calci oxalat:

Không hòa tan trong *dung dịch acid acetic loãng* (TT), tan trong *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT), không sủi bọt.

Hòa tan chậm trong *dung dịch acid sulfuric 50 %* (TT), nhưng sau khi để yên một lúc thì tách ra những tinh thể calci sulfat.

Calci carbonat: Hòa tan trong dung dịch acid hydrochloric loãng (TT) và có sủi bọt.

Silic: Không hòa tan trong acid sulfuric (TT).

6. Các thuốc thử dùng cho phân tích vi thể

Dung dịch sắt (III) clorid: Hòa tan 1 g sắt (III) clorid (TT) trong nước và thêm nước vừa đủ 100 ml.

Thuốc thử cloral hydrat: Hòa tan 50 g cloral hydrat (TT) trong 15 ml nước và 10 ml glycerin (TT).

Dung dịch glycerin - acid acetic: Hòa lẫn các thể tích bằng nhau của glycerin (TT), acid acetic băng (TT) và nước.

Dung dịch Sudan III: Hòa tan 0,01 g Sudan III (TT) trong 5 ml ethanol 90 % (TT), thêm 5 ml glycerin (TT), lắc kỹ. Bảo quản trong lọ thủy tinh màu nâu và sử dụng trong thời gian 2 tháng.

Dung dịch đỏ rutheni: Cho một lượng vừa đủ đỏ rutheni (TT) vào 1 ml đến 2 ml dung dịch natri acetat 10 % (TT) để tạo thành màu đỏ vang. Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch phloroglucinol: Hòa tan 1 g phloroglucinol (TT) trong 100 ml ethanol 90 % (TT), lọc. Bảo quản trong lọ thủy tinh màu nâu, tránh ánh nắng.

Thuốc thử acid cromic - nitric:

Hòa tan 10 ml acid nitric (TT) trong 100 ml nước.

Hòa tan 10 g acid cromic (TT) trong 100 ml nước. Trộn lẫn các thể tích bằng nhau của 2 dung dịch trên trước khi dùng.

Fuchsin-glycerin-gelatin: Lấy 1,0 g gelatin (TT), thêm 6 ml nước, ngâm. Thêm 7 ml glycerin (TT), đun nóng và khuấy nhẹ để được hỗn hợp đồng nhất. Lọc qua gạc vào một hộp lồng, thêm một lượng vừa đủ fuchsin base [lấy 0,1 g fuchsin base (TT), thêm 600 ml ethanol (TT) và 80 ml dầu long não để hòa tan], trộn đều và để cho rắn lại.

Dung dịch 1 - naphthol: Lấy 10,5 ml dung dịch 1 - naphthol 15 % trong ethanol (TT), thêm chậm 6,5 ml acid sulfuric (TT), trộn đều, thêm 40,5 ml ethanol (TT) và 4 ml nước. Trộn đều.

Dung dịch thủy ngân (II) nitrat: Lấy 4,5 g thủy ngân (TT), thêm 3 ml acid nitric bốc khói (TT), trộn đều. Bảo quản trong lọ thủy tinh màu nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch kẽm clorid - iod: Lấy 8 g kali iodid (TT), thêm 8,5 ml nước để hòa tan. Sau đó thêm 2,5 g kẽm clorid khan (TT), hòa tan rồi thêm iod (TT) cho đến bão hòa. Bảo quản trong lọ thủy tinh màu nâu có nút mài.

Dung dịch lục iod: Hòa tan 0,3 g lục iod (TT) trong 100 ml nước, thêm 10 ml ethanol 90 % (TT), trộn đều.

Dung dịch carmin 40: Hòa tan 1 g carmin 40 (TT), 5 g kali sulfat (TT) và 0,5 g phenol (TT) trong 100 ml nước.

12.19 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ TRƯỞNG NỖ

Chỉ số trương nở là thể tích (ml) chiếm giữ của 1 g thuốc, sau khi để trương nở trong nước hoặc một dung

môi khác đã được quy định trong 4 giờ, gồm tất cả các chất nhầy bám dính.

Cân chính xác khoảng 1 g thuốc, để nguyên hoặc nghiền nhỏ ở mức độ thích hợp theo chỉ dẫn trong chuyên luận, cho vào 1 ống nghiệm thủy tinh 25 ml có nút mài, chiều cao 120 mm đến 130 mm, và chia độ 0,5 ml. Trừ những chỉ dẫn khác, làm ẩm thuốc với 1,0 ml ethanol 96 % (TT), thêm 25 ml nước và đập nút. Lắc kỹ 10 phút một lần trong 1 giờ đầu, sau đó để yên 3 giờ. Ở 1,5 giờ sau khi bắt đầu thí nghiệm, loại bỏ những thể tích tự do của chất lỏng còn lại trong lớp thuốc và những tiểu phân thuốc nổi lên bề mặt của chất lỏng bằng cách quay ống nghiệm theo trục thẳng đứng.

Đo thể tích chiếm giữ của thuốc bao gồm toàn bộ các chất nhầy bám dính. Mỗi mẫu tiến hành 3 lần thí nghiệm. Tính chỉ số trương nở từ kết quả trung bình của 3 lần thí nghiệm đó.

12.20 PHƯƠNG PHÁP CHẾ BIẾN ĐÔNG DƯỢC

Trong đông y, các vị thuốc được dùng để uống bao giờ cũng qua khâu chế biến.

Sơ chế (Chế biến sơ bộ): Nhằm loại bỏ các bộ phận không dùng làm thuốc (Rễ con, lõi, gốc, hạch...) hoặc để ổn định dược liệu ngay từ đầu (phoi, sấy, xông diêm sinh...). Như vậy qua sơ chế, ta có nguyên liệu ban đầu được gọi là “thuốc sống”, tuy nhiên phải đáp ứng được các yêu cầu nhất định về chất lượng đã đề ra.

Phức chế (Chế biến hoàn chỉnh): Quá trình chế biến phức tạp hơn, nhằm giảm bớt độc tính, tác dụng không mong muốn hoặc thay đổi tính năng, tăng sự quy kinh thuốc, nhiều khi còn ảnh hưởng đến cấu trúc của hoạt chất và tác dụng của vị thuốc đem chế. Như vậy qua phức chế ta thu được nguyên liệu mang ý nghĩa dược dụng và gọi là “thuốc chín”, đáp ứng được các yêu cầu trong điều trị.

Phương pháp dùng nước

Rửa: Nhằm làm sạch dược liệu, loại bỏ tạp chất hoặc có thể để khử mùi hôi tanh của một số dược liệu (dùng nước sắc của một số dược liệu có tinh dầu). Nước dùng để rửa phải đạt tiêu chuẩn nước sạch, thời gian rửa phụ thuộc vào tính chất của các dược liệu. Dược liệu có cấu tạo mỏng manh hoặc có thành phần dễ tan trong nước, hoặc có các chất nhầy cần rửa nhanh. Dược liệu có cấu trúc rắn chắc, có mùi vị khó chịu có thể rửa kỹ. Các dược liệu dễ bị nát thì không rửa.

Ngâm: Nhằm làm mềm dược liệu, giúp cho việc bào thái dễ dàng. Ngâm để loại muối bám vào dược liệu. Ngâm để giảm tính độc, ngâm để loại nhớt, ngứa. Nước để ngâm phải đạt tiêu chuẩn nước sạch, hoặc các dung dịch muối vô cơ như: Natri clorid,

magnesi clorid, natri sulfat, calci hydroxyd, magnesi sulfat, phèn chua; hoặc nước sắc được liệu như: nước bồ kết, nước cam thảo, nước gạo, nước gừng... Thời gian ngâm phụ thuộc vào nhiệt độ của mùa, mùa hè ngâm nhanh hơn mùa đông. Dụng cụ để ngâm được liệu là thạp sành, bể xi măng, chậu nhựa, thùng nhựa, không dùng các dụng cụ bằng kim loại như tôn, sắt... Quá trình ngâm phải thường xuyên khuấy đảo và thay nước nhiều lần.

Tắm: Đem được liệu tắm vào một phụ liệu nào đó, rồi phơi khô hoặc phơi âm can đến khô.

Ủ: Nhằm làm mềm, giúp cho việc bào thái dễ dàng; để tạo dáng, ngay sau thu hái; để tạo điều kiện lên men cho một số được liệu khi chế biến, ủ để làm thơm được liệu, ủ để phụ liệu chế ngấm vào được liệu. Thời gian ủ phụ thuộc vào mục đích đối với từng loại được liệu, nói chung nằm trong khoảng 30 phút đến 2 giờ hoặc lâu hơn (12 giờ đến 24 giờ). Trong quá trình ủ, có thể dùng vải sạch hoặc bao tải sạch thấm ẩm đặt lên mặt dụng cụ đựng thuốc.

Thủy phi: Là phương pháp tán, nghiền được liệu trong nước với mục đích thu được bột mịn, tránh nhiệt tạo ra khi tán làm hỏng thuốc, tránh làm được liệu bị phân hủy, sinh chất độc khi nghiền tán trực tiếp. Cho được liệu vào dụng cụ tán là sành, sứ..., không dùng dụng cụ bằng kim loại như sắt, đồng, tôn..., đổ nước ngập được liệu, thường lượng nước gấp 10 lần lượng thuốc. Sau khi tán kỹ, hớt bỏ bụi rác bên trên, gạn lấy lớp nước bột huyền phù sang một dụng cụ khác, phần còn lại tiếp tục làm như thế nhiều lần. Gộp tất cả nước bột, để lắng, gạn bỏ lớp nước, lấy cặn đem phơi âm can hoặc sấy nhẹ đến khô. Được liệu thường chế theo cách này như Thần sa, Chu sa, Thạch quyết minh...

Phương pháp dùng lửa (Hỏa chế)

Phương pháp sao

Được liệu đem sao cần có sự phân chia đến kích thước thích hợp. Nếu là thuốc phiến thường có kích thước dài 3 cm đến 5 cm, dày 1 mm đến 3 mm, đồng thời phân ra to nhỏ khác nhau để khi sao đạt được sự đồng đều của thuốc và tránh cháy.

Sao không qua chất trung gian, không cho thêm phụ liệu (Thanh sao)

Vi sao: Nhằm diệt men, mốc hoặc làm khô và dậy mùi thơm đối với được liệu có cấu tạo mỏng manh (hoa, lá...), hoặc được liệu chứa các chất thơm, tinh dầu... Nhiệt độ sao nằm trong khoảng 50 °C đến 80 °C, sau khi làm nóng chảo, cho được liệu vào, đảo đều đến khô hoặc có mùi thơm.

Sao vàng: Nhằm giảm bớt tính hàn, làm cho thuốc trở nên thơm, làm tăng quy kinh tỳ. Sau khi làm nóng

chảo, cho được liệu vào đảo đều, đến khi mặt ngoài của được liệu chuyển màu vàng, nhiệt độ sao khoảng 100 °C đến 150 °C.

Sao vàng hạ thổ: Nhằm giảm bớt tính hàn của thuốc, đồng thời giảm bớt "hỏa độc" của thuốc, mặt khác làm giảm mùi khó chịu của thuốc. Sau khi sao thuốc tới vàng, nhân lúc còn nóng lấy ra đổ úp thuốc xuống nền đất đã quét sạch, đôi khi còn đào một hố sâu 10 cm, rộng 30 cm. Dụng cụ sao úp trên thuốc. Thời gian hạ thổ thường từ 10 phút đến 15 phút.

Sao vàng xém cạnh: Nhằm khử các mùi vị khó chịu của thuốc, tăng tác dụng tiêu thực của vị thuốc. Sau khi nóng chảo, cho được liệu vào, đảo đều cho đến khi mặt ngoài xém cạnh là vừa, màu ruột thuốc vẫn giữ nguyên. Nhiệt độ sao vào khoảng 170 °C đến 200 °C. Thường tiến hành với các vị thuốc chua, chất hoặc tanh lợm như Bình lang, Thần khúc, Hòe giác....

Sao tồn tính (hắc sao): Nhằm tăng tác dụng tiêu thực, chỉ huyết của vị thuốc hoặc làm thay đổi tính năng của thuốc. Sau khi chảo nóng già, cho thuốc vào, đảo đều cho đến khi toàn bộ mặt ngoài bị đen đi, khi bỏ ra bên trong vẫn còn màu vàng. Nhiệt độ sao khoảng 200 °C.

Sao cháy (thán sao): Nhằm tăng tác dụng chỉ huyết của vị thuốc. Sau khi chảo nóng già, cho thuốc vào, đảo đều đến khi toàn bộ mặt ngoài của thuốc cháy đen (có mùi cháy) bên trong có màu nâu. So với sao tồn tính thì mức độ cháy cao hơn. Nhiệt độ sao khoảng 200 °C đến 240 °C. Kể cả sao tồn tính và sao cháy, trước khi đổ thuốc ra thường phun vào một ít nước lạnh để trừ hỏa độc.

Tắm sao (Chích)

Sau khi tắm với phụ liệu (nước sắc gừng, giấm...) rồi đem sao, nhằm tăng sự qui kinh, tăng tác dụng của vị thuốc.

Tắm rượu sao: Dùng sức nóng, tính thăng đề của rượu để dẫn thuốc lên thượng tiêu (tác dụng thăng đề), để giảm bớt tính lạnh của vị thuốc, giảm bớt mùi vị khó chịu, tăng cường bổ can thận cho vị thuốc. Dùng rượu trắng 35 % đến 40 %, với lượng 10 % đến 15 % (tính theo khối lượng, so với lượng được liệu). Sau khi tắm, ủ thuốc 30 phút đến 1 giờ, đem sao ở nhiệt độ sao vàng, khi có mùi thơm của rượu bốc lên là được.

Tắm giấm sao (Thố chế): Nhằm tăng dẫn thuốc vào kinh can đờm, tăng cường tác dụng giảm đau, tiêu ứ huyết, giảm bớt mùi tanh của vị thuốc, làm xốp giòn vị thuốc giúp cho việc dễ tán, dễ chiết xuất. Tắm được liệu với 10 % đến 15 % giấm ăn (tt/kl), ủ 30 phút đến 2 giờ, rồi sao vàng.

Tắm nước muối sao (Diêm chế): Nhằm dẫn thuốc vào kinh thận và hạ tiêu. Tắm được liệu với 10 % đến 15 % dung dịch muối ăn 5 % (tt/kl). Sau khi tắm đều, ủ 30 phút đến 1 giờ, rồi sao vàng.

Tẩm mật sao (Mật chế): Dùng mật ong để chế thuốc. Nhằm tăng tác dụng dẫn thuốc vào kinh tỳ, tăng tác dụng bổ khí, nhuận phế và tăng tác dụng hoãn giải. Thường dùng mật ong dưới dạng mật luyện (mật ong đun sôi, lọc bỏ tạp, sấp...cô đến thể tích nhất định), lượng mật được qui định trong từng chuyên luận, thêm nước sạch (bằng khoảng 30 % lượng mật), tẩm đều vào dược liệu, ủ 1 giờ đến 6 giờ. Tiến hành sao nhỏ lửa, cho đến khi sờ không dính tay; dược liệu có màu vàng, mùi thơm mật, vị ngọt. Cũng có thể đem dược liệu, sao tới khi bên ngoài dược liệu có màu vàng, cho mật vào, đảo đều, tới khi không dính tay.

Tẩm nước gừng sao (Khương chế): Nhằm giảm bớt tính hàn, tăng sức phát tán, tăng khả năng tiêu thực, ôn trung. Tẩm dược liệu với 10 % đến 15 % dịch nước gừng tươi (tt/kl), ủ 30 phút đến 1 giờ, đem sao vàng. Gừng già tươi 100 g, rửa sạch, giã nhỏ, thêm nước sạch, vắt lấy dịch đủ 100 ml.

Tẩm hoàng thổ sao: Nhằm tăng tác dụng quy tỳ vị, giảm bớt tính hao của thuốc. Lấy hoàng thổ (đất sét vàng), đất lòng bếp (Phục long can) hoặc đất lòng lò gạch, nghiền mịn, cứ 100 g đất thêm 1 lít nước đun sôi, khuấy đều, gạn bỏ lớp trên, bỏ cạn, lấy lớp giữa. Cứ 1 kg dược liệu tẩm với 4 lít nước hoàng thổ, trộn đều, ủ 2 giờ đến 3 giờ. Sao vàng, chà sát rây bỏ hoàng thổ.

Tẩm sữa: Dùng sữa người (Nhũ nhân chế), sữa dê tươi (Dương nhũ chế) hoặc sữa bò tươi. Nhằm tăng tính dưỡng huyết, bổ âm và giảm bớt tính hao của thuốc. Dùng sữa tươi với tỷ lệ 10 % đến 15 % (tt/kl) để tẩm vào dược liệu, ủ 30 phút. Vị sao tới thơm.

Tẩm nước vo gạo (Mễ cam chế): Nhằm giảm tính hao của thuốc. Dùng nước vo gạo đặc, mới vo, với tỷ lệ 10 % đến 15 % (tt/kl), tẩm đều, ủ 4 giờ đến 6 giờ, sao vàng.

Tẩm đồng tiện: Nhằm tăng tác dụng hoạt huyết, tư âm giáng hỏa. Dùng nước tiểu trẻ em từ 5 đến 12 tuổi, khỏe mạnh, nước tiểu mới đi, bỏ đoạn đầu đoạn cuối, với lượng từ 10 % đến 15 % (tt/kl). Sau khi tẩm trộn đều, ủ 30 phút đến 1 giờ. Sao vàng.

Tẩm nước đậu đen, nước cam thảo: Nhằm giảm bớt tính chất của thuốc (tẩm với nước đậu đen), tăng khả năng giải độc (tẩm với Cam thảo). Lấy nước sắc đậu đen (100 g cho 1 lít dịch sắc), tẩm vào dược liệu với tỷ lệ 10 % đến 20 % (tt/kl), với Cam thảo đem tán nhỏ, sắc lấy nước hoặc ngâm 24 giờ, lấy nước. Tẩm đều vào dược liệu, ủ cho ngấm khoảng 30 phút. Sao khô.

Sao qua chất trung gian

Sao cám: Nhằm làm thơm thuốc, tăng quy kinh tỳ (Hoài sơn, Ý dĩ, Thần khúc, Bạch truật); giảm bớt tính hao của thuốc. Thường dùng cám gạo, với tỷ lệ giữa cám và dược liệu là 1/10 (tt/kl). Đầu tiên cho cám vào chảo đã đun nóng già, khuấy đều, tới khi cám bốc khói

trắng, cho dược liệu vào, đảo đều; sao đến khi bề mặt thuốc có màu vàng hoặc thâm; lấy ra, chà sát, rây bỏ cám.

Sao cách cát : Do nhiệt độ nâng cao, phá vỡ cấu trúc rắn của dược liệu, giúp cho việc bào chế (nghiên, sắc thuốc...) thuận lợi, đồng thời giảm mùi khó chịu, hoặc giảm bớt tính độc của dược liệu. Nhiệt độ sao nằm trong khoảng 250 °C đến 300 °C. Cát phải được làm sạch (đã qua rửa nhiều lần bằng cách cho nước sạch vào, khuấy nhiều lần, gạn bỏ lớp nước trên, đổ ra phơi khô, sấy khô), đun nóng già, cho dược liệu vào đảo đều, đến lúc mặt ngoài phồng nứt; hoặc phồng thơm, lấy ra sàng bỏ cát.

Sao cách bột hoạt thạch hay văn cấp (vỏ hàu): Nhằm khử mùi hôi tanh khó chịu của thuốc nhất là các dược liệu có nguồn gốc động vật, đồng thời giúp cho dễ tán các dược liệu có thể chất dẻo dính. Đun nóng già bột trung gian, cho dược liệu vào đảo đều đến khi phồng giòn, xốp, sàng lấy dược liệu.

Nướng (Ôi): Nhằm tăng tính ấm và tăng khả năng dẫn thuốc vào tỳ vị. Thường dùng các phụ liệu có thể chất dẻo dính như bột gạo nếp (thêm nước làm áo bọc thuốc) hoặc giấy bản ẩm hoặc đất sét bọc thuốc, vùi vào tro nóng hay nướng trên bếp than.

Đốt

Nhằm làm sạch các lông, rễ phụ, sau khi phơi khô dược liệu, có thể đốt trực tiếp hoặc cho dược liệu lên các dàn sắt để đốt. Cũng có thể dùng nhiệt của một dụng cụ như dùi sắt đã hơi nóng đỏ, rồi đốt các lông.

Đốt rượu

Nhằm làm thơm vị thuốc, đốt cháy các lông có trên vị thuốc. Thường dùng ethanol 90 % để đốt.

Nung

Làm cho vị thuốc trở nên giòn xốp, có lợi cho việc nghiền tán bột; do ở nhiệt độ cao từ 300 °C đến 700 °C, có thể phá vỡ cấu trúc rắn chắc của thuốc, đôi khi có tác dụng giảm độc tính, hoặc biến tính của dược liệu. Thường tiến hành với các dược liệu có thể chất cứng rắn như Mẫu lệ, Long xỉ, Long cốt; hoặc tăng cường tính thu sáp của các vị thuốc như Phèn chua, Băng sa...

Nung trực tiếp: Đặt dược liệu tiếp xúc trực tiếp trong lò (nhiệt độ 800 °C đến 1000 °C), nung cho đỏ đều, lấy ra để nguội.

Nung gián tiếp: Cho dược liệu vào nồi nung sạch, đặt nắp, trát kín bằng đất sét ẩm. Nhiệt độ nung thường trong khoảng 150 °C đến 200 °C. Có khi bọc dược liệu vào đất sét, rồi nung.

Sấy

Nhằm làm khô dược liệu, để chế biến, bảo quản trong quá trình phân phối, sử dụng. Tùy theo tính chất của

dược liệu để điều chỉnh nhiệt độ sấy và phương pháp sấy cho thích hợp. Với các dược liệu chứa tinh dầu thì nhiệt độ sấy thường ở 50 °C, các dược liệu khác thường sấy ở 80 °C. Các phương pháp sấy thường được sử dụng như sấy khô trong tủ sấy ở áp suất thường, sấy trên bếp hoặc lò than, sấy bằng hồng ngoại....

Phương pháp kết hợp nước-lửa

Chung

Nhằm thay đổi tính năng, giảm bớt tác dụng phụ giúp cho việc điều trị tốt hơn. Cho dược liệu vào dụng cụ chung thích hợp như âu sành, inox..., có thể thêm phụ liệu (Sa nhân, Gừng ...), đậy kín, đặt dụng cụ chung này vào một dụng cụ lớn hơn, thêm nước vừa đủ để đun theo thời gian quy định cho mỗi dược liệu. Lấy dược liệu ra phơi hay sấy khô. Có trường hợp phải chung, phơi nhiều lần (cửu chung, cửu sái), cho đến lúc dược liệu mềm nhuận, đen bóng.

Đồ

Nhằm diệt men trong dược liệu để tránh thủy phân hoạt chất, để làm mềm cho dễ bào thái. Dược liệu được phân loại to nhỏ và xếp vào một dụng cụ thích hợp (chõ), loại to xếp dưới, loại nhỏ xếp trên. Nếu có phụ liệu thì xếp xen kẽ một lớp thuốc, một lớp phụ liệu, đậy chõ. Bắc chõ lên một nồi đáy, trát kín chõ tiếp xúc bằng đất sét hay bột nhào của cám và lá khoai, rồi đồ trong khoảng thời gian qui định, đến lúc dược liệu chín mềm.

Nấu

Nhằm làm mềm dược liệu, tăng tác dụng của thuốc, giảm tác dụng không mong muốn, nhiều khi nấu với phụ liệu khác. Cho dược liệu vào dụng cụ nấu có dung tích thích hợp, loại to xếp dưới, loại nhỏ xếp trên để dược liệu chín đều. Đáy dụng cụ có thể lót vỉ để tránh tiếp xúc dược liệu với đáy nồi nấu. Đổ nước sạch hay dịch phụ liệu ngập dược liệu 5 cm đến 10 cm. Đun sôi và duy trì theo thời gian quy định. Trong quá trình đun có thể gạn nước và thêm nước mới nhiều lần. Khi dược liệu chín đều, lấy ra thái mỏng, phơi hoặc sấy khô tới độ ẩm qui định.

Tôi

Nhằm làm giòn dược liệu, giúp cho việc nghiền, tán dễ dàng, đồng thời khử các mùi khó chịu của thuốc. Dược liệu được rang cách cát hoặc nung tới khi đạt yêu cầu, khi đổ ra còn đang nóng thì nhúng ngập nhanh vào nước hay vào một dung dịch phụ liệu như giấm hoặc nước Hoàng liên... Lấy ra phơi hoặc sấy khô.

Rán dầu

Nhằm làm giảm độc tính của dược liệu: Mã tiền, làm cho dược liệu trở nên giòn, dễ tán nhỏ: Xương báo. Thường tiến hành với dầu lạc, vừng. Đun sôi dầu. Cho dược liệu vào; rán cho đến khi có màu hơi vàng. Dược liệu nổi lên, thể chất giòn, xốp. Vớt ra cho nhỏ hết dầu. Lượng dầu so với dược liệu thường có tỷ lệ khoảng 20 % đến 30 % (tt/kl).

PHỤ LỤC 13

13.1 PHÉP THỬ HISTAMIN

Dùng chuột lang nặng 250 g đến 350 g. Để chuột nhịn đói trong 24 giờ, cho uống nước theo nhu cầu của chuột. Giết chuột đột ngột bằng một cú đánh mạnh vào đầu chuột.

Mổ bụng chuột, dùng kẹp, kẹp vào manh tràng, nâng lên và kéo ra phía trước, sẽ thấy hồi tràng nổi vào manh tràng. Cắt lấy một đoạn hồi tràng dài khoảng 2 cm, cho vào khay đựng dung dịch B (nếu làm chậm phải súc khí carbogen). Loại bỏ các chất còn trong đoạn ruột bằng cách dùng một pipet có dung dịch B lồng vào đầu đoạn ruột rồi để cho dung dịch B trong pipet chảy tự nhiên qua đoạn ruột. Cần để pipet ở tư thế nghiêng sao cho mặt thoáng của dung dịch B không cao quá 2 cm so với đoạn ruột trong khay.

Thay dung dịch B mới vào khay. Buộc vào mỗi đầu của đoạn ruột một sợi chỉ mảnh và rạch một đường ngang nhỏ ở giữa đoạn ruột.

Cho đoạn ruột vào bình nuôi cơ quan cô lập có dung tích 10 ml đến 20 ml, chứa dung dịch B, và giữ ở nhiệt độ hằng định 34 °C đến 36 °C. Sục một hỗn hợp khí có 95 thể tích oxygen và 5 thể tích carbon dioxyd qua bình nuôi. Một đầu sợi chỉ buộc vào gần đáy bình nuôi, đầu kia nối với đầu ghi của một kimograph hoặc thiết bị thích hợp để ghi sự co bóp của ruột. Nếu dùng bút ghi trên giấy thì điều chỉnh sao cho biên độ có thể khuếch đại lên khoảng 20 lần. Sức căng của ruột nên vào khoảng 9,8 mN và điều chỉnh theo độ nhạy của ruột.

Thay dung dịch B trong bình nuôi cơ quan. Để yên 10 phút. Tiếp tục thay dung dịch B 2 đến 3 lần như vậy nữa.

Thêm vào bình nuôi cơ quan, chính xác khoảng 0,2 ml đến 0,5 ml dung dịch histamin dihydroclorid có nồng độ nhất định để gây nên một đáp ứng gần tối đa có thể lặp lại được. Liều này gọi là liều "cao".

Thay dung dịch B ở bình nuôi 3 lần trước mỗi lần thêm histamin. Nên thêm histamin vào những khoảng thời gian cách đều để ruột giãn hoàn toàn giữa các lần thêm (khoảng 2 phút).

Tương tự, thêm những thể tích bằng nhau của dung dịch có nồng độ histamin thấp để cho đáp ứng có biên độ bằng khoảng một nửa biên độ của liều "cao" và có thể lặp lại được. Liều này gọi là liều "thấp".

Tiếp tục thêm đều đặn các liều "cao" và liều "thấp" histamin như đã nêu ở trên và xen kẽ thêm cùng một thể tích dung dịch pha từ mẫu thử. Điều chỉnh độ pha loãng của dung dịch thử để cho sức co của ruột nhỏ hơn sức co của liều "cao".

Kiểm tra xem sức co của dung dịch thử có lặp lại không và xem đáp ứng với liều cao và liều thấp có như trước không.

Tính hoạt lực của chất thử ra microgam histamin base căn cứ vào độ pha loãng đã xác định ở trên. Lượng histamin xác định được không được vượt quá lượng ghi trong chuyên luận.

Nếu chất thử không gây co bóp ruột, pha một dung dịch khác và cho thêm một lượng histamin tối đa dung nạp được ghi trong chuyên luận và thử với dung dịch này. Theo dõi xem sự co cơ của dung dịch này có tương ứng với lượng histamin đã thêm không. Nếu dung dịch này không gây ra sự co cơ tương ứng hoặc sự co của dung dịch thử không lặp lại được, hoặc sau khi thử chất thử rồi, thử lại với histamin chuẩn liều "cao" và liều "thấp" mà đáp ứng có giảm đi thì kết quả thử là không có giá trị và phải thử chất hạ áp của thuốc theo chuyên luận "Phép thử các chất hạ áp, Phụ lục 13.3".

Dung dịch A:

Natri clorid	160 g
Kali clorid	4,0 g
Calci clorid khan	2,0 g
Magnesi clorid khan	1,0 g
Dinatri hydrophosphat	50 mg
Nước cất pha tiêm	vừa đủ 1000 ml

Dung dịch B:

Dung dịch A	50 ml
Atropin sulfat	0,5 mg
Natri hydrocarbonat	1,0 g
D - glucose	0,5 g
Nước cất pha tiêm	vừa đủ 1000 ml
Dung dịch B chỉ pha ngay trước khi dùng và phải dùng trong vòng 24 giờ.	

13.2 PHÉP THỬ NỘI ĐỘC TỔ VI KHUẨN

Phép thử nội độc tố vi khuẩn dùng để phát hiện hoặc định lượng nội độc tố của vi khuẩn gram âm có trong mẫu thử cần kiểm tra. Phương pháp sử dụng thuốc thử lysat là dịch phân giải tế bào dạng amip có trong máu một loài sam biển, *Limulus polyphemus* hoặc *Tachypleus tridentatus*.

Hiện nay có 3 phương pháp để thực hiện phép thử này: Phương pháp tạo gel dựa trên sự tạo thành gel khi cho thuốc thử vào dung dịch có chứa nội độc tố; phương pháp đo độ đục, dựa vào sự thay đổi độ đục của thuốc thử lysat khi tạo gel; phương pháp đo màu dựa trên sự thay đổi màu của phức hợp màu - peptid.

Tùy theo điều kiện và tính chất của mẫu thử, có thể áp dụng một trong các kỹ thuật thích hợp để thực hiện phép thử. Tuy nhiên, khi có nghi ngờ hoặc tranh chấp,

kết luận cuối cùng sẽ dựa vào phương pháp tạo gel trừ khi có chỉ dẫn khác.

Phép thử được thực hiện trong điều kiện tránh nhiễm khuẩn.

Thiết bị và dụng cụ:

Tất cả dụng cụ dùng trong phép thử này đều phải không có chứa nội độc tố.

Với những dụng cụ thủy tinh hoặc bằng chất liệu chịu được nhiệt, loại chất gây sốt bằng cách sấy ở 250 °C trong ít nhất 30 phút. Nếu dùng các dụng cụ là chất dẻo, như các đầu hút của micropipet hay các khay lỗ để làm phản ứng, chỉ dùng các loại có chất liệu không ảnh hưởng tới phép thử và không có chứa nội độc tố.

Nước để thử nội độc tố (nước BET): Là nước cất pha tiêm cho kết quả âm tính trong phép thử nội độc tố ở điều kiện quy định. Có thể dùng nước cất 3 lần hoặc một loại nước cất pha tiêm thu được bằng phương pháp thích hợp khác đạt yêu cầu trên.

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, dùng nước BET làm dung môi để pha tất cả các dung dịch dùng trong phép thử.

Dung dịch acid hydrochloric 0,1 M BET và natri hydroxyd 0,1 M BET: Là dung dịch được pha từ acid hydrochloric đậm đặc hoặc natri hydroxyd rắn với nước BET trong một dụng cụ không có chứa nội độc tố.

Các dung dịch này đạt yêu cầu nếu sau khi điều chỉnh đến pH 6,0 đến 8,0, cho kết quả âm tính trong điều kiện của phép thử.

Nội độc tố chuẩn và dung dịch chuẩn gốc: Nội độc tố chuẩn được sử dụng trong phép thử như một chất đối chiếu. Chuẩn được thiết lập và đánh giá theo nội độc tố chuẩn quốc tế. Hoạt lực của chuẩn được biểu thị theo đơn vị quốc tế qui định bởi Tổ chức Y tế Thế giới (International Unit = IU) hoặc đơn vị nội độc tố (Endotoxin Unit – EU). 1 IU tương đương với 1 EU.

Dung dịch chuẩn gốc nội độc tố được pha theo quy định đóng gói của từng nhà sản xuất. Trên nhãn và tờ hướng dẫn sử dụng kèm theo ghi rõ cách pha, điều kiện bảo quản và số đơn vị nội độc tố có trong dung dịch chuẩn gốc sau khi pha theo hướng dẫn.

Pha dung dịch chuẩn: Pha dung dịch chuẩn gốc với nước BET để được dãy chuẩn có nồng độ thích hợp. Trước khi pha, thường yêu cầu lắc mạnh dung dịch chuẩn gốc trong ít nhất 15 phút, và mỗi lần pha loãng, trộn các dung dịch pha loãng ít nhất 30 giây. Dùng các dung dịch chuẩn đã pha loãng càng sớm càng tốt để tránh mất hoạt lực.

Dung dịch thử:

Chuẩn bị dung dịch thử bằng cách hòa tan hoặc pha loãng mẫu thử với nước BET đến độ pha loãng thích hợp. Một số chất hoặc chế phẩm có thể cần phải hòa tan hoặc pha loãng trong dung dịch thân nước khác. pH của hỗn hợp phản ứng phải nằm trong khoảng qui

định cho mỗi loại thuốc thử, thông thường trong khoảng 6,0 đến 8,0. Do vậy, nên điều chỉnh pH của dung dịch thử cho phù hợp bằng các dung dịch acid hydrochloric 0,1 M BET, natri hydroxyd 0,1 M BET hoặc một đệm thích hợp theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

Phép thử không thích hợp với một số loại mẫu thử như các loại nhũ dịch, hỗn dịch... Một số chất có thể cho phản ứng dương tính hoặc âm tính giả với thuốc thử như các chế phẩm từ máu, polynucleotid; chế phẩm có chứa kim loại nặng, chất điện hoạt, nồng độ ion cao. Do vậy, cần phải khảo sát, tìm phương pháp xử lý và đánh giá trước khi áp dụng phép thử cho chế phẩm.

Độ pha loãng tối đa:

Độ pha loãng tối đa (MVD) là hệ số pha loãng lớn nhất cho phép để thu được dung dịch thử có chứa lượng nội độc tố có thể phát hiện được.

MVD được tính như sau:

$$\text{MVD} = \frac{\text{Giới hạn nội độc tố} \times \text{nồng độ dung dịch thử}}{\lambda}$$

Trong đó:

Giới hạn nội độc tố (Endotoxin Limit = EL): Giới hạn nội độc tố thường được quy định trong các chuyên luận riêng. Chế phẩm đạt yêu cầu nếu lượng nội độc tố có trong chế phẩm thấp hơn giới hạn qui định. Giới hạn nội độc tố của các chế phẩm được tính trên cơ sở liều dùng cho người theo công thức sau:

$$\text{EL} = K/M$$

Trong đó:

K là ngưỡng nội độc tố tính cho 1 kg thể trọng người có thể chịu đựng được mà không xảy ra phản ứng độc hại; Giá trị K được tham khảo trong Bảng 13.2.1 dưới đây;

M là liều tối đa của sản phẩm tính cho 1 kg thể trọng dùng dưới dạng đơn liều trong thời gian khoảng 1 giờ. Liều này được hiểu là lượng thuốc tối đa có thể được dùng trong vòng 1 giờ. Với các loại thuốc tiêm dưới da, tiêm bắp hoặc tiêm tĩnh mạch một lần sẽ được coi như dùng đơn liều. Với các dịch truyền tĩnh mạch trong thời gian dài, tính M theo lượng thuốc của liều có thể được truyền tối đa trong một giờ, dựa trên tốc độ truyền tiêu chuẩn nếu không có qui định riêng nào cho chế phẩm. Giá trị được dùng là liều tối đa theo khuyến cáo của nhà sản xuất, có thể mức liều đó vượt quá mức liều theo chỉ dẫn của thầy thuốc.

Nếu một sản phẩm có thể được dùng theo cả 2 đường tiêm trong màng cứng và các đường tiêm khác thì giới hạn nội độc tố cho sản phẩm được tính theo giá trị K của đường tiêm trong màng cứng vì có yêu cầu chặt chẽ hơn.

Bảng 13.2.1

Loại sản phẩm	K (tính cho 1 kg thể trọng)
Các loại thuốc tiêm trong màng cứng	0,2
Các thuốc phóng xạ tiêm tĩnh mạch	2,5
Tất cả các thuốc tiêm trừ loại tiêm trong màng cứng hoặc thuốc phóng xạ	5,0

Trên thực tế, các nhà sản xuất thường qui định giới hạn nội độc tố cho sản phẩm thấp hơn nhiều so với giới hạn tính theo ngưỡng chịu đựng của người bệnh, để khi dùng liều tối đa sản phẩm vẫn đảm bảo an toàn cho người bệnh.

Nồng độ của dung dịch thử:

Tính bằng mg/ml nếu giới hạn nội độc tố trong chuyên luận riêng quy định theo khối lượng (IU/mg).

Tính bằng đơn vị/ml nếu giới hạn nội độc tố trong chuyên luận riêng quy định theo đơn vị hoạt lực sinh học (IU/ đơn vị).

Tính bằng ml/ml nếu giới hạn nội độc tố trong chuyên luận riêng quy định theo thể tích (IU/ml).

λ là độ nhạy của thuốc thử được ghi trên nhãn (kỹ thuật tạo gel) hoặc nồng độ nội độc tố thấp nhất đã dùng để xây dựng đường cong chuẩn (phương pháp đo độ đục hoặc đo màu).

PHƯƠNG PHÁP TẠO GEL

Phương pháp tạo gel cho phép phát hiện hoặc xác định lượng nội độc tố dựa trên sự tạo gel của thuốc thử lysat với nội độc tố. Nồng độ nội độc tố yêu cầu để tạo gel với thuốc thử lysat trong điều kiện tiêu chuẩn là độ nhạy ghi trên nhãn của thuốc thử. Để đảm bảo độ chính xác và giá trị của phép thử, phải tiến hành phép thử kiểm tra để khẳng định độ nhạy ghi trên nhãn của thuốc thử lysat và kiểm tra các yếu tố ảnh hưởng theo hướng dẫn dưới đây.

Chuẩn bị thử

Kiểm tra độ nhạy của lysat

Độ nhạy của thuốc thử lysat ghi trên nhãn là nồng độ nội độc tố thấp nhất cần thiết để tạo gel với thuốc thử trong điều kiện xác định.

Phép thử kiểm tra độ nhạy được thực hiện mỗi khi có lô thuốc thử mới hoặc khi có sự thay đổi điều kiện thí nghiệm có thể ảnh hưởng tới kết quả của phép thử.

Tiến hành:

Chuẩn bị các dung dịch nội độc tố chuẩn với ít nhất 4 nồng độ tương đương 2λ ; λ ; $1/2\lambda$ và $1/4\lambda$ bằng cách pha loãng dung dịch chuẩn gốc với nước BET, mỗi nồng độ cần 4 ống. Trong đó λ là độ nhạy ghi trên nhãn của lysat muốn kiểm tra. Pha thuốc thử lysat với

nước BET theo hướng dẫn trên nhãn. Trộn một thể tích thuốc thử với đồng lượng dung dịch chuẩn (thường dùng 0,1 ml) cho mỗi ống. Ủ các ống nghiệm có chứa hỗn hợp phản ứng trong một khoảng thời gian quy định theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử lysat [thường ở $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ trong (60 ± 2) phút], tránh bị rung động mạnh.

Đọc kết quả sau một khoảng thời gian qui định. Phản ứng dương tính nếu gel tạo thành không bị chảy ra khi nhẹ nhàng dốc ngược ống nghiệm (180°). Phản ứng âm tính khi không tạo thành gel hoặc gel không đủ chắc, rất dễ bị rã khi dốc ngược ống nghiệm.

Phép thử không có giá trị nếu bất kỳ ống nào của dung dịch chuẩn nội độc tố có nồng độ thấp nhất ($0,25\lambda$) cho phản ứng dương tính. Khi đó, cần kiểm tra kỹ lại các điều kiện thử nghiệm và lặp lại thí nghiệm.

“Điểm dừng” là ống cuối cùng có hệ số pha loãng lớn nhất trong dãy cho phản ứng dương tính.

Độ nhạy của thuốc thử được biểu thị là trung bình nhân của nồng độ điểm dừng (IU/ml), được tính như sau: Tính giá trị trung bình của các logarit nồng độ nội độc tố tại điểm dừng, sau đó lấy đối – logarit của giá trị trung bình.

Trung bình nhân nồng độ điểm dừng = $\text{anti log}(\Sigma e/f)$.

Trong đó:

Σe là tổng các logarit nồng độ điểm dừng của mỗi dãy đã thử;

f là số dãy chuẩn nội độc tố đã thử

Độ nhạy ghi trên nhãn của thuốc thử được khẳng định là đúng nếu trung bình nhân nồng độ điểm dừng lớn hơn hoặc bằng $0,5\lambda$ và nhỏ hơn hoặc bằng $2,0\lambda$.

Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng

Phép thử được tiến hành để xác định xem trong mẫu thử có chứa các yếu tố làm tăng hay ức chế phản ứng hay không. Khi có bất kỳ sự thay đổi điều kiện nào đó có thể ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm, cần thực hiện phép thử này.

Chuẩn bị các dung dịch A, B, C và D theo như Bảng 13.2.2. Các điều kiện thử nghiệm như nhiệt độ, thời gian ủ và đánh giá kết quả tương tự như trong phần

Kiểm tra độ nhạy của lysat

Trung bình nhân nồng độ điểm dừng của dung dịch B và C được xác định theo hướng dẫn đã nêu trong phần *Kiểm tra độ nhạy của lysat*.

Phép thử có giá trị khi dung dịch A và D cho phản ứng âm tính và kết quả dung dịch C khẳng định đúng độ nhạy của thuốc thử.

Nếu độ nhạy của lysat tính theo dung dịch B lớn hơn $0,5\lambda$ và nhỏ hơn $2,0\lambda$ thì mẫu thử không chứa yếu tố ảnh hưởng và phép kiểm tra yếu tố ảnh hưởng đạt yêu cầu. Nếu không thỏa mãn các yêu cầu trên thì mẫu thử có chứa yếu tố ảnh hưởng tới phép thử.

Bảng 13.2.2 - Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng

Dung dịch	Nồng độ nội độc tố được thêm vào mỗi dung dịch	Dung môi	Hệ số pha loãng	Nồng độ nội độc tố sau khi pha loãng	Số ống nghiệm
A	0/dung dịch thử	-	-	-	4
B	2λ/dung dịch thử	dung dịch mẫu thử	1	2 λ	4
			2	1 λ	4
			4	0,5 λ	4
			8	0,25 λ	4
C	2λ/nước BET	Nước BET	1	2 λ	2
			2	1 λ	2
			4	0,5 λ	2
			8	0,25 λ	2
D	0/nước BET	-	-	-	2

Trong đó:

Dung dịch A (dung dịch thử): Mẫu thử pha ở độ pha loãng $\leq MVD$.

Dung dịch B (đối chứng dương tính có mẫu thử): Nội độc tố pha trong dung dịch thử để kiểm tra yếu tố ảnh hưởng.

Dung dịch C (kháng định độ nhạy của lysat): Chuẩn nội độc tố pha trong nước BET với nồng độ khác nhau.

Dung dịch D (đối chứng âm tính): Nước BET.

Nếu mẫu thử có chứa yếu tố ảnh hưởng tới phép thử ở độ pha loãng nhỏ hơn MVD, làm lại phép kiểm tra yếu tố ảnh hưởng, dùng dung dịch thử có độ pha loãng lớn hơn nhưng không quá MVD.

Sử dụng thuốc thử có độ nhạy cao hơn sẽ cho phép mẫu thử được pha loãng nhiều hơn, khi đó có thể hạn chế được yếu tố ảnh hưởng. Ngoài ra, có thể xử lý để loại các yếu tố ảnh hưởng bằng phương pháp thích hợp như lọc, trung hòa, thẩm tách hoặc đun nóng. Để đảm bảo phương pháp xử lý đã chọn chắc chắn loại được yếu tố ảnh hưởng mà không làm mất nội độc tố, cần thực hiện phép thử Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng với dung dịch thử sau khi xử lý và cho thêm chuẩn nội độc tố. Nếu phương pháp có hiệu quả, cần ghi vào tiêu chuẩn.

Phép thử giới hạn

Dựa trên sự tạo gel của thuốc thử lysat với nội độc tố, phương pháp này kiểm tra xem lượng nội độc tố có trong mẫu thử có lớn hơn giới hạn qui định hay không.

Tiến hành: Chuẩn bị dung dịch A, B, C và D theo Bảng 13.2.3, mỗi dung dịch 2 ống. Các điều kiện thử nghiệm như nhiệt độ, thời gian ủ và đánh giá kết quả tương tự như trong phần Kiểm tra độ nhạy của lysat.

Bảng 13.2.3

Dung dịch	Nồng độ nội độc tố thêm vào cho mỗi dung dịch	Số ống nghiệm
A	0/dung dịch thử	2
B	2 λ/dung dịch thử	2
C	2 λ/nước BET	2
D	0/nước BET	2

Trong đó:

Dung dịch A (dung dịch thử): Mẫu thử pha ở độ pha loãng $\leq MVD$.

Dung dịch B (đối chứng dương tính có mẫu thử): Nội độc tố pha trong dung dịch thử.

Dung dịch C (đối chứng dương tính): Chuẩn nội độc tố pha trong nước BET.

Dung dịch D (đối chứng âm tính): Nước BET.

Đánh giá kết quả:

Phép thử có giá trị nếu cả 2 ống của dung dịch B và C đều cho kết quả dương tính và dung dịch D âm tính.

Mẫu thử đạt yêu cầu nếu kết quả âm tính ở cả hai ống nghiệm của dung dịch A.

Mẫu thử không đạt yêu cầu nếu kết quả dương tính trên cả hai ống nghiệm của dung dịch A khi độ pha loãng bằng MVD.

Nếu hai ống của dung dịch A cho kết quả khác nhau, một ống dương tính và một ống âm tính thì làm lại phép thử. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu ở lần thử thứ hai cả hai ống đều cho kết quả âm tính.

Phép thử bán định lượng

Phép thử này xác định lượng nội độc tố có trong dung dịch mẫu thử bằng cách thực hiện phản ứng tiến dần tới điểm dừng trong quá trình tạo gel.

Tiến hành: Chuẩn bị dung dịch A, B, C và D theo Bảng 13.2.4, mỗi dung dịch 2 ống nghiệm.

Dung dịch thử dùng cho dung dịch A và B phải không có chứa yếu tố ảnh hưởng. Các điều kiện thử nghiệm như nhiệt độ, thời gian ủ và đánh giá kết quả tương tự như trong phần Kiểm tra độ nhạy của lysat.

Bảng 13.2.4

Dung dịch	Nồng độ nội độc tố được thêm vào mỗi dung dịch	Dung môi	Hệ số pha loãng	Nồng độ nội độc tố sau khi pha loãng	Số ống nghiệm
A	0/dung dịch mẫu thử	-	1	-	2
			2		2
			4		2
			8		2

B	2λ/dung dịch mẫu thử	Dung dịch mẫu thử	1	2 λ	2
C	2λ/nước BET	Nước BET	1 2 4 8	2 λ 1 λ 0,5 λ 0,25 λ	2 2 2 2
D	0/nước BET	-	-	-	2

Trong đó:

Dung dịch A (dung dịch thử): Dung dịch thử có độ pha loãng $\leq MVD$, không có yếu tố ảnh hưởng. Pha mẫu thử với nước BET theo các hệ số pha loãng 1/2, 1/4, 1/8... Có thể pha loãng tiếp để có kết quả phù hợp nhưng hệ số pha loãng dung dịch thử cuối cùng phải không quá MVD.

Dung dịch B (đối chứng dương tính có mẫu thử): Nội độ tổ pha trong dung dịch A, để kiểm tra yếu tố ức chế sự tạo gel.

Dung dịch C (đối chứng dương tính): 2 dây chuẩn nội độ tổ pha trong nước BET

Dung dịch D (đối chứng âm tính): Dung nước BET

Tính toán và đánh giá kết quả:

Phép thử có giá trị khi thỏa mãn 3 điều kiện sau:

a - Cả 2 ống của dung dịch D đều âm tính (đối chứng âm tính).

b - Cả 2 ống của dung dịch B đều dương tính (đối chứng dương tính có mẫu thử).

c - Trung bình nhân nồng độ điểm dừng của dung dịch C nằm trong khoảng 0,5 λ đến 2 λ.

Điểm dừng được xác định là ống nghiệm có hệ số pha loãng cao nhất trong dãy của dung dịch A cho phản ứng dương tính, và nồng độ nội độ tổ ở điểm dừng của dung dịch A là tích số của độ pha loãng tại điểm đó nhân với hệ số λ.

Nồng độ nội độ tổ trong dung dịch mẫu cần kiểm tra được xác định là trung bình nhân nồng độ điểm dừng của các dãy thử, tính trung bình nồng độ nội độ tổ của 2 dãy (tương tự như phần Kiểm tra độ nhạy của lysat).

Nếu không có nồng độ nào của dung dịch A cho phản ứng dương tính, thì nồng độ nội độ tổ của dung dịch A nhỏ hơn λ × hệ số pha loãng thấp nhất của dung dịch A.

Nếu tất cả các độ pha loãng đều cho phản ứng dương tính, nồng độ nội độ tổ của dung dịch A là bằng hoặc lớn hơn tích của hệ số pha loãng lớn nhất của dung dịch A nhân với λ.

Có thể pha loãng tiếp để tìm được điểm dừng. Tính nồng độ nội độ tổ của mẫu thử (EU/ml, EU/mg hoặc mEq hoặc EU/đơn vị), dựa trên nồng độ nội độ tổ trung bình của dung dịch A. Mẫu thử đạt yêu cầu phép thử này nếu nồng độ nội độ tổ có trong mẫu thử thấp hơn giới hạn nội độ tổ quy định trong chuyên luận riêng.

PHƯƠNG PHÁP ĐO QUANG

Phương pháp đo độ đục

Phương pháp đo độ đục xác định lượng nội độ tổ có trong dung dịch mẫu thử dựa trên đo mức độ thay đổi độ đục trong quá trình tạo gel của thuốc thử lysat. Hiện nay có 2 kỹ thuật được áp dụng: đo độ đục tại điểm dừng hoặc đo độ đục động học.

Đo độ đục tại điểm dừng dựa trên sự tương quan giữa nồng độ nội độ tổ và độ đục của hỗn hợp phản ứng ở thời điểm xác định vào cuối của giai đoạn ủ.

Đo độ đục động học dựa trên sự tương quan giữa nồng độ nội độ tổ và thời gian cần thiết để đạt tới độ đục định trước của hỗn hợp phản ứng hoặc tốc độ tăng độ đục của hỗn hợp.

Phép thử thường thực hiện ở $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, độ đục biểu thị bằng độ hấp thụ hay độ truyền qua.

Phương pháp đo màu

Phương pháp đo màu xác định nồng độ nội độ tổ của các dung dịch mẫu thử dựa trên đo chất màu được giải phóng ra từ một cơ chất mang màu do phản ứng của nội độ tổ với thuốc thử lysat.

Có 2 kỹ thuật đo: đo màu tại điểm dừng hoặc đo màu động học.

Đo màu tại điểm dừng dựa trên tương quan giữa nồng độ nội độ tổ và đậm độ chất màu tạo thành của hỗn hợp phản ứng ở điểm cuối của giai đoạn ủ.

Đo màu động học dựa trên mối tương quan định lượng giữa nồng độ nội độ tổ và thời gian cần thiết để hỗn hợp phản ứng đạt tới độ hấp thụ (hoặc độ truyền qua) định trước hoặc tốc độ tăng màu của hỗn hợp.

Phép thử thường thực hiện ở $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Chuẩn bị

Để đảm bảo độ đúng và giá trị của phương pháp đo màu hoặc đo độ đục, phải tiến hành phép thử *Kiểm tra đường chuẩn* và *Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng* như sau:

Kiểm tra đường chuẩn: Phép thử được thực hiện với mỗi lô thuốc thử lysat mới. Dùng dung dịch nội độ tổ chuẩn, pha ít nhất 3 nồng độ nội độ tổ để tạo được đường chuẩn trong khoảng nồng độ nội độ tổ ghi trong hướng dẫn của thuốc thử lysat đang sử dụng. Với mỗi nồng độ, phải dùng ít nhất 3 ống tùy theo điều kiện qui định cho thuốc thử lysat đang dùng (về tỷ lệ thể tích, thời gian ủ, nhiệt độ, pH...)*

Giá trị tuyệt đối của hệ số tương quan [r], phải lớn hơn hoặc bằng 0,980 cho khoảng nồng độ nội độ tổ đã dùng.

Nếu phép thử không có giá trị, kiểm tra các điều kiện thử nghiệm và tiến hành lại như trên.

Phép thử *Kiểm tra đường chuẩn* phải được thực hiện mỗi khi có thay đổi một điều kiện nào đó có thể ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm.

Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng: Chọn nồng độ nội độ tổ vào khoảng giữa của đường chuẩn.

Chuẩn bị dung dịch A, B, C và D theo Bảng 13.2.5. Tiến hành phép thử với các dung dịch này sau khi đã chuẩn hóa các điều kiện theo qui định của loại thuốc thử lysat sử dụng (về thể tích, tỷ lệ thể tích dung dịch thử và thuốc thử lysat, thời gian ủ).

Phép thử *Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng* phải được thực hiện mỗi khi có sự thay đổi có thể ảnh hưởng tới kết quả thử nghiệm.

Bảng 13.2.5

Dung dịch	Nồng độ nội độc tố thêm vào mỗi dung dịch	Dung dịch được thêm nội độc tố	Số ống nghiệm hoặc lỗ phản ứng
A	0	Dung dịch mẫu	Không ít hơn 2
B	Nồng độ ở khoảng giữa của đường cong chuẩn	Dung dịch mẫu	Không ít hơn 2
C	ít nhất 3 nồng độ	Nước BET	Mỗi nồng độ không ít hơn 2
D	0	Nước BET	Không ít hơn 2

Trong đó:

Dung dịch A (dung dịch thử): Dung dịch mẫu pha loãng không quá MVD.

Dung dịch B: Thêm dung dịch chuẩn vào dung dịch mẫu thử để có nồng độ nội độc tố vào khoảng đoạn giữa của đường cong chuẩn.

Dung dịch C (đối chứng dương tính): Dung dịch chuẩn nội độc tố có nồng độ dùng trong thẩm định phương pháp như mô tả trong phần Kiểm tra đường chuẩn.

Dung dịch D (đối chứng âm tính): Dùng nước BET.

Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số tương quan của đường chuẩn thu được từ dung dịch C lớn hơn hoặc bằng 0,980.

Dung dịch D phải cho kết quả không vượt quá giới hạn giá trị trắng theo qui định của thuốc thử lysat đã dùng, hoặc thấp hơn giới hạn nội độc tố phát hiện của lysat đã dùng.

Khả năng tìm lại được lượng nội độc tố chuẩn thêm vào dung dịch B bằng hiệu số nồng độ đã tìm thấy trong dung dịch B trừ đi nồng độ nội độc tố tìm được trong dung dịch A.

Nếu khả năng tìm lại lượng nội độc tố thêm vào nằm trong khoảng 50 % đến 200 %, dung dịch mẫu cần kiểm tra được coi là không có yếu tố ảnh hưởng.

Nếu nồng độ tìm lại được nằm ngoài khoảng qui định, dung dịch mẫu cần kiểm tra có chứa yếu tố ảnh hưởng. Khi đó, cần xử lý để loại yếu tố ảnh hưởng bằng các phương pháp thích hợp (như đã nêu trong phương pháp tạo gel). Sau đó, phải thực hiện đánh giá lại xem phương pháp xử lý có loại được yếu tố ảnh hưởng không.

Xác định lượng nội độc tố trong mẫu thử

Tiến hành: Chuẩn bị dung dịch A, B, C và D theo như Bảng 13.2.5, và theo qui trình như đã mô tả trong phần Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng.

Tính nồng độ nội độc tố:

Tính nồng độ nội độc tố trong mỗi ống của dung dịch A theo đường chuẩn thu được từ dung dịch C. Phép thử không có giá trị trừ khi thỏa mãn các yêu cầu sau:

1. Giá trị tuyệt đối của hệ số tương quan của đường chuẩn theo dung dịch C lớn hơn hoặc bằng 0,980.
2. Lượng nội độc tố tìm lại được, tức là hiệu số nồng độ nội độc tố tìm lại được trong dung dịch B trừ đi nồng độ nội độc tố trong dung dịch A, phải nằm trong khoảng 50 % đến 200 %.
3. Kết quả của dung dịch D không vượt quá giới hạn giá trị trắng của thuốc thử lysat đã dùng, hoặc phải thấp hơn giới hạn nội độc tố phát hiện của lysat đã dùng.

Đánh giá kết quả:

Mẫu thử đạt phép thử nội độc tố vi khuẩn nếu nồng độ nội độc tố có trong mẫu thử tính từ nồng độ nội độc tố trung bình của các ống dung dịch A thấp hơn giới hạn nội độc tố qui định trong chuyên luận riêng.

* Nếu tỷ số giá trị logarit đáp ứng giữa nồng độ cao nhất so với nồng độ thấp nhất trong khoảng khảo sát lớn hơn 2, thì nên thêm một số nồng độ để thu được đường chuẩn có khoảng cách giữa các giá trị log phù hợp.

13.3 PHÉP THỬ CÁC CHẤT HẠ ÁP

Thử các chất hạ áp là phương pháp sinh học dựa vào tác dụng hạ huyết áp của thuốc đem thử trên mèo đã được gây mê so với tác dụng hạ áp của thuốc histamin chuẩn.

Chuẩn bị thí nghiệm

Động vật: Mèo khỏe mạnh, trưởng thành, đực hoặc cái (không mang thai), cân nặng từ 1,8 kg trở lên.

Nước muối heparin: Dung dịch chứa 50 đơn vị heparin trong 1 ml dung dịch natri clorid 0,9 % dùng để chống đông máu. Có thể dùng một dung dịch chống đông thích hợp thay thế.

Dung dịch histamin chuẩn: Dùng histamin dihydroclorid hoặc histamin monohydrophosphat bảo quản trong lọ kín, làm khô bằng silica gel 2 giờ trước khi cân. Hòa tan trong nước cất một lượng histamin đã được cân chính xác thành dung dịch 1 mg/ml histamin base. Ngay trước khi thử, pha loãng dung dịch histamin này (1 mg/ml) bằng dung dịch natri clorid 0,9 % đã tiệt trùng thành dung dịch có nồng độ 0,1 µg/ml tính theo histamin base.

Mẫu thử: Pha theo từng chuyên luận tương ứng trong dung dịch natri clorid 0,9 % đã tiệt khuẩn hoặc trong dung môi thích hợp, đến nồng độ cần thiết.

Tiến hành

Mèo được gây mê bằng cloralose hoặc một loại barbiturat thích hợp như phenobarbital v.v... để duy trì được huyết áp đồng đều trong suốt thời gian thí nghiệm. Cổ định động vật trên bàn mổ, cần làm nhẹ nhàng sao cho mèo không bị kích thích. Có biện pháp giữ để thân nhiệt mèo không giảm quá giới hạn sinh lý bằng đèn hoặc lò sưởi. Thông khí quản bằng một canun thủy tinh. Bộc lộ động mạch cảnh, lồng canun có chứa đầy nước muối heparin (hoặc dung dịch chống đông khác) vào động mạch cảnh. Nối canun với huyết áp kế thủy ngân hoặc một thiết bị ghi huyết áp khác đạt yêu cầu về độ nhạy. Bộc lộ tĩnh mạch đùi, luồn vào đó một kim tiêm đầu tù có chứa nước muối heparin, buộc cổ định lại để tiêm mẫu thử hoặc histamin chuẩn.

Xác định độ nhạy của động vật với histamin bằng cách tiêm tĩnh mạch các liều 1 ml (0,1 μ g) và 1,5 ml (0,15 μ g) dung dịch histamin chuẩn cho mỗi kg thể trọng. Khoảng cách thời gian giữa các lần tiêm ít nhất là 1 phút sau khi huyết áp đã trở lại mức bình thường. Bình thường một liều histamin 0,1 μ g/kg thể trọng mèo làm huyết áp hạ khoảng 20 mmHg. Lập lại liều thấp histamin chuẩn (1 ml/kg) ít nhất 2 lần. Động vật được dùng vào thí nghiệm khi sự giảm huyết áp là hằng định ở các liều 1 ml/kg và với liều 1,5 ml/kg phải có độ hạ áp lớn hơn.

Sau khi đã đạt yêu cầu thử độ nhạy với histamin, tiêm tĩnh mạch cho mỗi kg mèo 1 ml dung dịch histamin chuẩn. Tiếp theo tiêm 2 liều liên tục của mẫu thử theo chỉ dẫn của từng chuyên luận và cuối cùng lại tiêm dung dịch histamin chuẩn với liều 1 ml/kg. Thời gian giữa các lần tiêm là hằng định như đã nêu ở trên. Nhắc lại chuỗi tiêm như trên một lần nữa và kết thúc bằng 1,5 ml dung dịch histamin chuẩn cho 1 kg mèo.

Đánh giá kết quả

a. Nếu độ hạ áp của dung dịch histamin chuẩn liều 1,5 ml/kg không lớn hơn liều 1 ml/kg thì thí nghiệm không có giá trị.

b. Chế phẩm đạt yêu cầu về thử các chất hạ áp nếu đạt cả 2 điều kiện sau:

Giá trị trung bình của các độ hạ áp khi tiêm mẫu thử không lớn hơn giá trị trung bình của các độ hạ áp khi tiêm dung dịch histamin chuẩn liều 1 ml/kg thể trọng mèo.

Mức hạ áp của mỗi lần tiêm mẫu thử đều không cao hơn mức hạ áp của dung dịch histamin chuẩn liều kết thúc 1,5 ml/kg.

c. Chế phẩm không đạt yêu cầu nếu một trong 2 điều kiện trên không đạt.

Chú ý: Động vật không được dùng để thử tác dụng hạ áp nữa nếu trong quá trình thử, đã có lần mẫu thử gây

hạ áp lớn hơn mức hạ áp do liều kết thúc 1,5 ml dung dịch histamin chuẩn cho 1 kg mèo, hoặc giá trị hạ áp của dung dịch histamin chuẩn ở liều kết thúc 1,5 ml/kg nhỏ hơn giá trị trung bình của các liều 1 ml/kg đã tiêm trước đó.

13.4 PHÉP THỬ CHẤT GÂY SỐT

Phép thử được xác định bằng cách đo sự tăng thân nhiệt thỏ sau khi tiêm tĩnh mạch dung dịch vô khuẩn của chất cần kiểm tra.

Lựa chọn động vật thí nghiệm

Dùng thỏ trưởng thành, khỏe mạnh, cả 2 giống, cân nặng không dưới 1,5 kg, nuôi dưỡng bằng thức ăn không có chứa kháng sinh và thỏ không có dấu hiệu giảm cân trong quá trình thử nghiệm. Không dùng để thử nghiệm nếu:

- Thỏ mới được dùng thử chất gây sốt có kết quả âm tính trong vòng 3 ngày trước đó, hoặc
- Thỏ đã được dùng thử chất gây sốt có kết quả dương tính trong vòng 3 tuần.

Khu vực lưu giữ động vật

Thỏ được nuôi giữ riêng từng con trong khu vực yên tĩnh, có nhiệt độ ổn định. Cho thỏ nhịn ăn từ đêm trước khi thử cho đến khi thử xong, không cho uống nước trong quá trình thử. Tiến hành phép thử trong phòng yên tĩnh, không có tiếng ồn, nhiệt độ phòng chênh lệch không quá 3 °C so với khu vực nuôi giữ, hoặc thỏ phải được lưu giữ ở điều kiện phòng thí nghiệm trong khoảng ít nhất 18 giờ trước khi thử nghiệm.

Dụng cụ, bơm và kim tiêm: Tất cả các dụng cụ, bơm và kim tiêm phải được rửa sạch và tráng nước cất, sấy ở nhiệt độ 250 °C trong 30 phút hoặc 200 °C trong 1 giờ.

Hộp, giá giữ thỏ: Các hộp, giá giữ thỏ cho trường hợp đo nhiệt độ bằng thiết bị điện được thiết kế để giữ ở cổ con vật nhưng không được chật quá, phần cơ thể còn lại được thoải mái để thỏ có thể ngồi ở tư thế bình thường. Không giữ thỏ bằng các loại kẹp hoặc giá có thể gây đau hoặc khó chịu cho con vật. Thỏ phải được cho vào hộp hoặc giá ít nhất 1 giờ trước khi thử và giữ ở đó trong suốt quá trình thử nghiệm.

Nhiệt kế: Nhiệt kế hoặc thiết bị điện dùng để ghi nhiệt độ có độ chính xác 0,1 °C và được đưa vào trực tràng của thỏ với độ sâu 5 cm. Độ sâu của nhiệt kế trong trực tràng phải giống nhau giữa các thỏ. Nếu dùng thiết bị điện, đầu đo nhiệt độ phải được đặt trong trực tràng trong suốt quá trình thử.

Thử nghiệm sơ bộ

Chỉ nên tiến hành thử sơ bộ với những thỏ lần đầu tiên được dùng để thử chất gây sốt.

Trong vòng 1 đến 3 ngày trước khi kiểm tra mẫu thử, tiêm tĩnh mạch tại 10 ml/kg thể trọng dung dịch natri clorid 0,9 % không có chất gây sốt, đã làm ấm đến khoảng 38,5 °C trước khi tiêm. Ghi nhiệt độ thỏ, bắt đầu ít nhất 90 phút trước khi tiêm và tiếp tục trong 3 giờ sau khi tiêm. Không dùng những thỏ có nhiệt độ thay đổi quá 0,6 °C vào thử nghiệm chính thức.

Thử nghiệm chính thức

Mỗi mẫu được thử trên một nhóm 3 thỏ.

Chuẩn bị và tiêm mẫu thử: Mẫu thử có thể được hòa tan trong một dung môi không có chất gây sốt, dung dịch natri clorid 0,9 % hoặc một chất lỏng được qui định trong chuyên luận riêng. Làm ấm dung dịch thử lên khoảng 38,5 °C trước khi tiêm. Tiêm chậm dung dịch thử vào tĩnh mạch tai thỏ trong khoảng thời gian không quá 4 phút, trừ khi có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận riêng. Lượng mẫu thử được tiêm sẽ thay đổi tùy theo chế phẩm cần kiểm tra và được qui định trong chuyên luận riêng. Thể tích tiêm trong khoảng 0,5 ml/kg thể trọng thỏ đến 10 ml/kg thể trọng thỏ.

Theo dõi nhiệt độ và xác định đáp ứng:

Ghi nhiệt độ thỏ 30 phút một lần, ít nhất 90 phút trước khi tiêm và tiếp tục 3 giờ sau khi tiêm. Theo dõi nhiệt độ trước khi tiêm, không dùng vào thử nghiệm nếu:

Thỏ có chênh lệch nhiệt độ > 0,2 °C giữa 2 lần ghi liên tiếp, hoặc

Thỏ có nhiệt độ ban đầu cao hơn 39,8 °C hoặc thấp hơn 38 °C, hoặc

Nhiệt độ ban đầu của 3 thỏ trong cùng nhóm khác nhau quá 1 °C.

“Nhiệt độ ban đầu” của mỗi thỏ là trung bình của 2 giá trị nhiệt độ ghi được cách nhau 30 phút, xác định trong khoảng 40 phút ngay trước khi tiêm dung dịch thử. “Nhiệt độ tối đa” của mỗi thỏ là nhiệt độ cao nhất ghi được cho thỏ đó trong vòng 3 giờ sau khi tiêm. Chênh lệch giữa “nhiệt độ ban đầu” và “nhiệt độ tối đa” được gọi là đáp ứng. Khi chênh lệch là âm, kết quả được coi là đáp ứng bằng 0.

Đánh giá kết quả:

Đầu tiên thử trên một nhóm 3 thỏ, tùy thuộc vào kết quả thu được, thử thêm lần lượt từng nhóm 3 thỏ khác cho đến khi tổng cộng 4 nhóm, nếu cần. Nếu tổng đáp ứng của nhóm đầu tiên không vượt quá số ghi trong cột 2 của bảng dưới đây, thì mẫu thử đạt yêu cầu. Nếu tổng đáp ứng vượt quá số ghi trong cột 2 nhưng không vượt quá số ghi trong cột 3 thì lặp lại phép thử trên nhóm khác như đã nêu ở trên. Nếu tổng các đáp ứng lớn hơn số ghi trong cột 3 thì mẫu thử không đạt yêu cầu.

Số thỏ	Mẫu thử đạt nếu tổng đáp ứng không vượt quá	Mẫu thử không đạt nếu tổng đáp ứng vượt quá
3	1,15 °C	2,65 °C
6	2,80 °C	4,30 °C
9	4,45 °C	5,95 °C
12	6,60 °C	6,60 °C

Những thỏ có nhiệt độ tăng cao quá 1,2 °C thì loại và không bao giờ dùng lại cho phép thử chất gây sốt.

13.5 THỬ ĐỘC TÍNH BẤT THƯỜNG

Độc tính bất thường của thuốc được xác định bằng cách theo dõi số chuột chết trong thời gian 48 giờ sau khi cho chuột một liều thuốc qua đường dùng theo qui định.

Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng khỏe mạnh, cân nặng 18 g đến 22 g, chưa dùng vào thí nghiệm, nếu là chuột cái phải không có thai hoặc đang cho con bú, được chăn nuôi trong điều kiện bình thường

Chuẩn bị dung dịch thử

Nếu không có hướng dẫn gì khác, chuẩn bị dung dịch thử bằng cách hòa tan mẫu thử trong dung dịch natri clorid 0,9 % hoặc nước cất tiêm (nếu thử theo đường tiêm) hoặc phân tán đều mẫu thử trong nước cất (nếu thử theo đường uống) để thu được dung dịch hoặc hỗn dịch có chứa lượng chất cần thử phù hợp với mức liều qui định trong chuyên luận riêng.

Tiến hành thử

Dùng 5 chuột, cho mỗi con 0,5 ml dung dịch thử bằng một trong những đường dùng sau:

Tiêm tĩnh mạch: Tiêm vào tĩnh mạch đuôi của mỗi chuột với tốc độ hằng định trong 15 giây đến 30 giây.

Tiêm trong màng bụng: Tiêm qua lớp da bụng vào thẳng hốc bụng chuột.

Tiêm dưới da: Tiêm dưới da vào một chỗ ở lưng hoặc bụng.

Uống: Cho uống bằng một kim cong đầu tù hoặc một dụng cụ khác thích hợp, phải đảm bảo đưa thuốc vào trong thực quản hoặc dạ dày.

Đánh giá kết quả

Nếu không có hướng dẫn gì khác thì quan sát chuột 48 giờ sau khi dùng thuốc.

Nếu không có chuột nào chết thì mẫu thử đạt yêu cầu.

Nếu có chuột chết, làm lại thử nghiệm với 10 chuột khác, dùng chuột có thể trọng (19 ± 1) g. Sau 48 giờ, nếu không có chuột nào chết thì mẫu thử đạt yêu cầu.

13.6 THỬ GIỚI HẠN NHIỄM KHUẨN

Thử giới hạn nhiễm khuẩn nhằm đánh giá số lượng vi khuẩn hiếu khí, nấm có khả năng sống lại được và phát hiện các vi khuẩn chỉ điểm y tế có trong thuốc.

Thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện vô khuẩn. Trong khi làm thí nghiệm, chú ý không đưa chất khử khuẩn vào mẫu thử.

Thử nghiệm được áp dụng cho tất cả các dược phẩm gồm cả nguyên liệu và thành phẩm của các thuốc không tiết khuẩn trong quá trình sản xuất.

Thử nghiệm sơ bộ***Tìm chất ức chế có trong thuốc***

Thử nghiệm giới hạn nhiễm khuẩn sẽ không có giá trị nếu chất ức chế có trong thuốc cản trở đến khả năng phát hiện các vi sinh vật. Vì vậy cần làm thí nghiệm kiểm tra trước bằng cách lấy dung dịch chế phẩm đã được pha ở nồng độ thích hợp vào môi trường chọn lọc cho *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, rồi cấy vào đó 1 ml canh khuẩn 24 h tuổi đã pha loãng với dung dịch đệm phosphat pH 7,2 ít nhất tới độ pha loãng 10^{-3} các vi khuẩn tương ứng. Nếu vi khuẩn không mọc, thí nghiệm cần thay đổi bằng cách:

1. Giữ nguyên lượng chất mang thử nhưng tăng thể tích môi trường.
2. Cho vào dung dịch pha loãng một lượng vừa đủ chất khử hoạt tính thích hợp.
3. Phối hợp cách làm (1) và (2) để vi khuẩn mang cấy có thể mọc được.

Tuỳ theo thành phần và nồng độ của mẫu thử, có thể thêm vào môi trường để trung hòa chất ức chế các loại sau: lecithin đậu tương 0,5 %, polysorbat 20: 4,0 %.

Làm lại thí nghiệm với điều kiện chất ức chế trong lượng mẫu mang kiểm tra đã được trung hòa.

Môi trường

Môi trường nuôi cấy có thể pha theo cách dưới đây hoặc có thể dùng môi trường khô do các hãng sản xuất môi trường vi sinh vật cung cấp. Các môi trường tự pha chế thường phải hấp diệt khuẩn bằng nồi hấp ở nhiệt độ 121 °C trong 15 phút trừ khi có những chỉ dẫn riêng đối với loại môi trường đặc biệt.

Thạch dùng cho pha chế môi trường có độ ẩm dưới 15 %. Nước dùng trong các công thức môi trường phải tinh khiết.

Môi trường lỏng casein lecithin đậu tương polysorbat

Casein thủy phân bởi pancreatin	20,0 g
Lecithin đậu tương	5,0 g
Polysorbat 20	40,0 ml
Nước	960 ml

Hòa tan casein thủy phân bởi pancreatin và lecithin đậu tương vào 960 ml nước, đun cách thủy ở 48 °C đến 50 °C khoảng 30 phút cho tan hoàn toàn. Thêm

40 ml polysorbat 20, trộn đều, phân chia vào các dụng cụ thích hợp.

Môi trường thạch casein đậu tương

Casein thủy phân bởi pancreatin	15,0 g
Natri clorid	5,0 g
Thạch	15,0 g
Bột đậu tương thủy phân bởi papain	5,0 g
Nước	1000 ml

pH sau khi tiết khuẩn: $7,3 \pm 0,2$

Môi trường lỏng casein đậu tương

Casein thủy phân bởi pancreatin	17,0 g
Dikali hydrophosphat	2,5 g
Bột đậu tương thủy phân bởi papain	3,0 g
Glucose	2,5 g
Natri clorid	5,0 g
Nước	1000 ml

Hòa tan các chất rắn vào nước đun nóng nhẹ để tan hoàn toàn. Để nguội dung dịch ở nhiệt độ phòng, phân chia vào các bình thích hợp đã tiết khuẩn. pH sau khi tiết khuẩn: $7,3 \pm 0,2$.

Môi trường thạch muối - manitol

Casein thủy phân bởi pancreatin	5,0 g
Thạch	15,0 g
Pepton	5,0 g
Cao thịt bò	1,0 g
Natri clorid	75,0 g
D-Manitol	10,0 g
Đỏ phenol	0,025 g
Nước	1000 ml

Trộn, đun nóng, khuấy đều, đun sôi khoảng 1 phút để tan hoàn toàn, pH sau khi tiết khuẩn: $7,4 \pm 0,2$.

Môi trường thạch Baird - Parker

Casein thủy phân bởi pancreatin	10,0 g
Cao thịt bò	5,0 g
Cao nấm men	1,0 g
Lithi clorid	5,0 g
Thạch	20,0 g
Glycin	12,0 g
Natri pyruvat	10,0 g
Nước	950 ml

Đun nóng, khuấy đều sau đun sôi khoảng 1 phút, tiết khuẩn, để nguội tới 45 °C đến 50 °C, thêm 10 ml dung dịch kali telurit 1 % vô khuẩn và 50 ml nhũ dịch lòng đỏ trứng. Trộn kỹ, nhẹ nhàng rót vào các hộp.

Chế tạo nhũ dịch lòng đỏ trứng bằng cách: Sát khuẩn toàn bộ bề mặt quả trứng, đập vỡ quả trứng trong điều kiện vô khuẩn, lấy lòng đỏ trứng vào ống trụ chia vạch vô khuẩn. Thêm nước muối sinh lý vô khuẩn để có tỷ lệ lòng đỏ trứng so với nước muối sinh lý là 3/7. Bỏ vào một cốc khuấy vô khuẩn, trộn với tốc độ lớn trong 5 phút.

pH sau khi tiết khuẩn $6,8 \pm 0,2$.

Môi trường thạch Vogel - Johnson

Casein thủy phân bởi pancreatin	10,0 g
Cao nấm men	5,0 g
Manitol	10,0 g
Natri pyruvat	10,0 g
Thạch	16,0 g
Glycin	10,0 g
Lithi clorid	5,0 g
Dikali hydrophosphat	5,0 g
Đỏ phenol	25,0 mg
Nước	1000 ml

Đun sôi để hòa tan các chất rắn trong khoảng 1 phút.
 Tiệt khuẩn, để nguội đến 45 °C đến 50 °C. Thêm
 20 ml dung dịch kali telurit 1 % vô khuẩn.
 pH sau khi tiệt khuẩn: $7,2 \pm 0,2$.

Môi trường thạch cetrimid

Gelatin thủy phân bởi pancreatin	20,0 g
Cetrimid (cetyl trimethylamoni bromid)	0,3 g
Magnesi clorid	1,4 g
Thạch	13,6 g
Glycerin	10,0 ml
Nước	1000 ml

Hòa tan tất cả các chất rắn vào trong nước, thêm
 glycerin. Đun nóng, khuấy đều, đun sôi 1 phút cho tan
 hoàn toàn.
 pH sau khi tiệt khuẩn: $7,2 \pm 0,2$

**Môi trường thạch Pseudomonas để phát hiện
Fluorescin**

Casein thủy phân bởi pancreatin	10,0 g
Pepton	10,0 g
Dikali hydrophosphat khan	1,5 g
Magnesi sulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1,5 g
Thạch	15,0 g
Glycerin	10,0 ml
Nước	1000 ml

Hòa tan tất cả các chất rắn vào nước trước khi thêm
 glycerin. Đun nóng, khuấy đều, đun sôi 1 phút cho tan
 hoàn toàn.
 pH sau khi tiệt khuẩn: $7,2 \pm 0,2$.

**Môi trường thạch Pseudomonas để phát hiện
Pyocyanin**

Gelatin thủy phân bởi pancreatin	20,0 g
Kali sunfat khan	10,0 g
Thạch	15,0 g
Magnesi clorid khan	1,4 g
Glycerin	10,0 ml
Nước	1000 ml

Hòa tan các chất rắn trong nước trước khi thêm
 glycerin. Đun nóng, khuấy đều, đun sôi khoảng 1 phút
 để tan hoàn toàn.

pH sau khi tiệt khuẩn: $7,2 \pm 0,2$.

Môi trường lỏng lactose

Cao thịt bò	3,0 g
Lactose	5,0 g
Gelatin thủy phân bởi pancreatin	5,0 g
Nước	1000 ml

Làm lạnh rất nhanh môi trường sau khi tiệt khuẩn.
 pH sau khi tiệt khuẩn: $6,9 \pm 0,2$

Môi trường lỏng selenit - cystin

Casein thủy phân bởi pancreatin	5,0 g
Natri selenit acid	4,0 g
Natri phosphat	10,0 g
Lactose	4,0 g
L- Cystin	10,0 mg
Nước	1000 ml

Đun nóng để tan hoàn toàn. Đun tiếp 15 phút nữa.
 Không cần tiệt khuẩn tiếp theo.
 pH sau khi tiệt khuẩn: $7,0 \pm 0,2$

Môi trường lỏng tetrathionat

Casein thủy phân bởi pancreatin	2,5 g
Calci carbonat	10,0 g
Muối mật	1,0 g
Pepton	2,5 g
Natri thiosulfat	30,0 g
Nước	1000 ml

Đun nóng để hòa tan các chất rắn. Khi sử dụng thêm
 vào môi trường dung dịch gồm: 5,0 g kali iodid và
 6,0 g iod trong 20 ml nước. Sau đó thêm 10 ml dung
 dịch xanh brilliant 0,1 % và trộn đều. Không đun nóng
 môi trường sau khi thêm dung dịch xanh brilliant.

Môi trường thạch xanh brilliant

Pepton	5,0 g
Đường trắng	10,0 g
Cao nấm men	3,0 g
Casein thủy phân bởi pancreatin	5,0 g
Lactose	10,0 g
Natri clorid	5,0 g
Thạch	20,0 g
Đỏ phenol	80,0 mg
Xanh brilliant	12,5 mg
Nước	1000 ml

Đun sôi để hòa tan tất cả các chất rắn trong 1 phút.
 Chỉ tiệt khuẩn trước khi dùng. Rót vào các hộp Petri
 và để nguội.
 pH sau khi tiệt khuẩn: $6,9 \pm 0,2$

Môi trường thạch xylose - lysin - desoxycholat

Xylose	3,5 g
Đỏ phenol	0,08 g
L-Lysin	5,0 g
Thạch	13,5 g
Lactose	7,5 g
Natri desoxycholat	2,5 g

Đường trắng	7,5 g
Natri thiosulfat	6,8 g
Natri clorid	5,0 g
Sắt (III) amoni citrat	0,8 g
Cao nấm men	3,0 g
Nước	1000 ml

Đun nóng, lắc tròn để trộn đều chất rắn với nước. Chú ý không để nóng quá. Chuyển ngay vào bình cách thủy và giữ ở nhiệt độ 50 °C. Rót vào các đĩa ngay trước khi môi trường nguội hoàn toàn.

pH sau khi tiệt khuẩn: $7,4 \pm 0,2$

Môi trường thạch bismuth sulfit

Cao thịt bò	5,0 g
Sắt (II) sulfat	0,3 g
Casein thủy phân bởi pancreatin	5,0 g
Bismuth sulfit	8,0 g
Pepton	5,0 g
Thạch	20,0 g
Glucose	5,0 g
Xanh brilliant	25,0 mg
Natri phosphat	4,0 g
Nước	1000 ml

Đun nóng, lắc tròn để hòa đều các chất rắn với nước, không để nóng quá. Chuyển ngay vào bình cách thủy và giữ ở nhiệt độ 50 °C. Rót vào các đĩa để nguội.

pH sau khi tiệt khuẩn: $7,6 \pm 0,2$

Môi trường thạch - sắt - ba đường

Casein thủy phân bởi pancreatin	10,0 g
Sắt (II) amoni sulfat	0,2 g
Pepton	20,0 g
Natri clorid	5,0 g
Lactose	10,0 g
Natri thiosulfat	0,3 g
Đường trắng	10,0 g
Thạch	13,0 g
D-Glucose monohydrat	1,0 g
Đỏ phenol	0,025 g
Nước	1000 ml

Hòa nóng các chất rắn với nước, đun sôi một phút cho tan hoàn toàn. Chuyển vào các dụng cụ thích hợp đã tiệt khuẩn.

pH sau khi tiệt khuẩn: $7,3 \pm 0,2$

Môi trường Mac - Conkey

Casein thủy phân bởi pancreatin	1,5 g
Natri clorid	5,0 g
Gelatin thủy phân bởi pancreatin	17,0 g
Thạch	13,5 g
Pepton	1,5 g
Lactose	10,0 g
Muối mật	1,5 g
Đỏ trung tính	30,0 mg
Tím tinh thể	1,0 mg
Nước	1000 ml

Hòa nóng các chất rắn với nước, đun sôi một phút cho tan hoàn toàn.

pH sau khi tiệt khuẩn: $7,1 \pm 0,2$

Môi trường thạch Levine - eosin - xanh methylen

Gelatin thủy phân bởi pancreatin	10,0 g
Dikali hydrophosphat	2,0 g
Thạch	15,0 g
Lactose	10,0 g
Eosin Y	0,4 g
Xanh methylen	0,065 g
Nước	1000 ml

Hòa tan nóng các thành phần gelatin pancreatic, dikali hydrophosphat và thạch trong nước, để lạnh. Các thành phần còn lại chỉ thêm vào khi sử dụng bằng cách đun chảy môi trường rồi thêm vào theo tỷ lệ: Cứ 100 ml môi trường thêm 5 ml dung dịch lactose (1 : 5), 2 ml dung dịch eosin Y (1 : 50) và 2 ml dung dịch xanh methylen (1 : 300). Môi trường sau khi hòa trộn có thể không trong suốt.

pH sau khi tiệt khuẩn: $7,1 \pm 0,2$

Môi trường thạch Sabouraud

Glucose monohydrat	40,0 g
Casein thủy phân bởi pancreatin	5,0 g
Pepton	5,0 g
Thạch	15,0 g
Nước	1000 ml

Hòa tan, đun sôi cho tan hoàn toàn.

pH sau khi tiệt khuẩn: $5,6 \pm 0,2$

Môi trường Sabouraud lỏng

Glucose	20,0 g
Pepton	5,0 g
Casein thủy phân bởi pancreatin	5,0 g
Nước	1000 ml

pH sau khi tiệt khuẩn: $5,6 \pm 0,2$

Môi trường thạch - khoai tây - glucose

Nấu 300 g khoai tây đã bóc vỏ và thái nhỏ trong 500 ml nước cất, lọc qua vải, thêm nước cất để được 1000 ml, rồi thêm vào các thành phần sau: thạch 15,0 g; glucose 20,0 g. Hòa tan nóng. Tiệt khuẩn. Khi dùng đun nóng chảy, để nguội đến 45 °C. Điều chỉnh môi trường bằng dung dịch acid tartric (1 : 10) đến pH $3,5 \pm 0,1$. Rót vào các đĩa.

Chú ý:

Không dùng môi trường đun nóng trở lại lần thứ 2.

Để ức chế vi khuẩn thường gặp mọc trên môi trường phát hiện nấm mốc và nấm men (môi trường thạch Sabouraud hoặc môi trường thạch - khoai tây - glucose) thêm vào một lít môi trường 0,1 g tetracyclin hoặc 50 mg cloramphenicol, làm đều ngay trước khi dùng.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,2: Hòa 34 g kali dihydrophosphat (TT) vào khoảng 500 ml nước cất trong bình định mức 1000 ml. Điều chỉnh pH tới $7,2 \pm 0,1$ bằng

cách thêm *dung dịch natri hydroxyd 2 %*. Thêm nước cất tới vạch. Trộn đều, phân chia vào các bình, tiệt khuẩn, bảo quản ở lạnh. Khi dùng, hòa loãng với nước cất theo tỷ lệ 1 : 800 và tiệt khuẩn.

Môi trường nước thịt

Cao thịt bò	5,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường thạch thường

Pepton	10,0 g
Natri clorid	5,0 g
Thạch	15 đến 20 g
Nước	1000 ml
pH sau khi tiệt khuẩn	7,4 ± 0,2

Môi trường pepton - natri clorid

Pepton	10,0 g
Natri clorid	5,0 g
Nước	1000 ml
pH sau khi tiệt khuẩn	7,0 ± 0,2

Môi trường tăng sinh cho Clostridia

Cao thịt bò	10,0 g
Pepton	10,0 g
Cao nấm men	3,0 g
Tinh bột dễ tan	1,0 g
Glucose monohydrat	5,0 g
Cystein hydroclorid	0,5 g
Natri clorid	5,0 g
Natri acetat	3,0 g
Thạch	0,5 g
Nước	1000 ml

Hòa tan thạch bằng cách đun nóng tới sôi, khuấy đều liên tục. Hấp tiệt khuẩn 121 °C trong 15 phút. Nếu cần điều chỉnh pH sao cho sau khi tiệt khuẩn khoảng 6,8.

Môi trường thạch Columbia

Casein thủy phân bởi pancreatin	10,0 g
Cao thịt bò	5,0 g
Tim thủy phân bởi pancreatin	3,0 g
Cao nấm men	5,0 g
Tinh bột ngô	1,0 g
Natri clorid	5,0 g
Thạch bột	15,0 g
Nước cất	1000 ml

Hòa tan thạch bằng cách đun nóng tới sôi, khuấy đều liên tục. Nếu cần điều chỉnh pH sao cho sau khi tiệt khuẩn khoảng 7,3 ± 0,2. Hấp tiệt khuẩn 121 °C trong 15 phút. Làm lạnh tới 45 °C đến 50 °C. Khi cần có thể thêm 20 mg gentamycin base và rót vào các hộp Petri.

Môi trường sulfit - lactose

Casein thủy phân bởi pancreatin	5,0 g
Cao nấm men	2,5 g
Cystein hydroclorid	0,3 g
Natri clorid	2,5 g
Lactose	10,0 g
Nước cất	1000 ml

Hòa tan tất cả các thành phần trong nước và điều chỉnh để có pH 7,1 ± 0,1. Đong vào các ống nghiệm 16 mm × 160 mm mỗi ống 8 ml và một ống nhỏ Durham. Hấp tiệt khuẩn 121 °C trong 15 phút. Bảo quản ở 4 °C.

Môi trường lỏng Enterobacteria - Mossel

Genlatin thủy phân bởi pancreatin	10,0 g
D-Glucose monohydrat	5,0 g
Mật bò khô	20,0 g
Kali dihydrophosphat	2,0 g
Dinatri hydrophosphat dihydrat	8,0 g
Xanh brilliant	15 mg
Nước	1000 ml

Điều chỉnh pH sao cho sau khi đun là 7,0 đến 7,4. Đun sôi trong 30 phút và làm lạnh ngay.

Môi trường muối mật violet - red

Cao nấm men	3,0 g
Gelatin thủy phân bởi pancreatin	7,0 g
Muối mật	1,5 g
Lactose monohydrat	10,0 g
Natri clorid	5,0 g
D-Glucose monohydrat	10,0 g
Đỏ trung tính	30 mg
Tím tinh thể	2 mg
Thạch	15,0 g
Nước	1000 ml

Điều chỉnh pH sao cho sau khi đun là 7,2 đến 7,6. Môi trường được đun sôi để tiệt trùng nhưng không được hấp tiệt trùng.

Chuẩn bị thí nghiệm

Lấy mẫu

Đối với các thử nghiệm dưới đây, mỗi thử nghiệm lấy 10 ml hoặc 10 g chế phẩm.

Cách thử nghiệm

Một mẫu chế phẩm cần xác định giới hạn vi khuẩn phải thực hiện đầy đủ các thử nghiệm sau:

Đếm tổng số vi sinh vật hiếu khí sống lại được, tính ra số lượng vi khuẩn, nấm có trong 1g hoặc 1 ml chế phẩm.

Thử nghiệm tìm những vi khuẩn gây bệnh sau:

Staphylococcus aureus

Pseudomonas aeruginosa

Salmonella

Escherichia coli

Chuẩn bị mẫu

Chế phẩm mang thử nghiệm trong quá trình hòa tan hoặc nhũ hóa phải đảm bảo không làm thay đổi chủng loại vi khuẩn, nấm có trong thuốc. Để có một dung dịch hoặc nhũ dịch thích hợp cho thử nghiệm, tiến hành như sau:

Đối với chế phẩm rắn, hòa tan trực tiếp hoặc nghiền mịn chế phẩm trong bình với dung môi hoặc chất nhũ hóa thích hợp.

Đối với chế phẩm ở dạng lỏng như dung dịch thực, nhũ dịch trong nước, chất rắn hòa tan dễ dàng và hoàn toàn trong nước..., dùng dung dịch đệm phosphat pH 7,2 hoặc dung dịch natri clorid 0,9 % để hòa loãng.

Những chế phẩm lỏng không thể hòa lẫn trong nước như dầu, kem hoặc sáp: Chế tạo nhũ dịch bằng cách thêm một lượng vừa đủ tác nhân nhũ hóa vô khuẩn thích hợp như các loại polysorbat. Dùng phương pháp khuấy trộn cơ học hoặc đồng thời làm ấm bằng nhiệt nhưng không được vượt quá 45 °C để có nhũ dịch chế phẩm đồng nhất.

Các chế phẩm ở dạng khí dung - lỏng: Làm lạnh bình để các khí hóa lỏng rồi mở nắp để lấy một lượng thích hợp mang thử.

Tiến hành

Đếm tổng số vi khuẩn hiếu khí

Đối với chế phẩm hòa tan tốt hoặc tạo thành dung dịch hơi đục, dùng phương pháp đĩa thạch. Còn các chế phẩm khác dùng phương pháp hòa loãng trong ống nghiệm.

Hòa tan hoặc làm nhũ hóa 10 g hoặc 10 ml chế phẩm vừa đủ trong 100 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,2 hoặc trong 100 ml dung môi thích hợp với từng loại chế phẩm, để được dung dịch chế phẩm có độ pha loãng ở tỷ lệ 1/10. Đối với những chế phẩm dạng nhầy không thể lấy chính xác bằng pipet ở tỷ lệ 1/10, có thể pha loãng tiếp để lấy được chính xác, nghĩa là có thể pha loãng đến tỷ lệ 1/50 hoặc 1/100 v.v...

Thực hiện thử nghiệm phát hiện chất ức chế trước khi xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí. Chế phẩm đã pha loãng phải cho ngay vào môi trường nuôi cấy mà không được để quá 1 giờ.

a) Phương pháp đĩa thạch

Hòa loãng chế phẩm sao cho khi cấy 1 ml dịch chế phẩm vào môi trường trong một hộp Petri, số khuẩn lạc mọc khoảng 30 đến 300 khuẩn lạc. Lấy dung dịch có độ pha loãng cuối cùng cho vào 2 hộp Petri, mỗi hộp 1ml. Thêm vào mỗi hộp 15 ml đến 20 ml môi trường thạch casein đậu tương hoặc môi trường thạch thường đã đun chảy và để nguội đến 45 °C. Đậy hộp, trộn đều bằng cách xoay qua, xoay lại. Sau đó để yên cho thạch đông cứng ở nhiệt độ phòng. Lật ngược hộp, mang ủ ở 30 - 35 °C từ 48 giờ đến 72 giờ. Sau thời gian ủ, kiểm tra vi khuẩn mọc ở đĩa, đếm số lượng khuẩn lạc. Lấy giá trị của đĩa có số lượng khuẩn lạc lớn nhất mà số khuẩn lạc trong đĩa không lớn hơn 300 và tính ra số lượng vi khuẩn trong 1 g hoặc 1 ml chế phẩm. Nếu thấy không có khuẩn lạc mọc ở đĩa có độ pha loãng 1/10 thì kết luận chế phẩm có ít hơn 10 vi khuẩn trong 1 g hoặc 1 ml.

b) Phương pháp pha loãng trong ống nghiệm

Cho vào 14 ống nghiệm cỡ thông thường, mỗi ống 9,0 ml môi trường lỏng casein đậu tương. Lấy một

dãy 12 ống chia thành 4 lô, mỗi lô 3 ống. Dùng một lô 3 ống để kiểm tra.

Thêm vào lô 1 gồm 3 ống và một ống thứ 4 (ống A) 1 g (hoặc 1 ml) chế phẩm và trộn đều.

Thêm vào lô 2 gồm 3 ống và một ống thứ 4 (ống B) 1 ml dung dịch lấy từ ống A và trộn đều.

Thêm vào lô 3 gồm 3 ống, mỗi ống 1 ml dung dịch lấy từ ống B và trộn đều.

Bỏ lượng (hoặc phần) không sử dụng của ống A và ống B.

Theo cách pha trên có lô 1, lô 2, lô 3, tương ứng với lượng chế phẩm là: 100; 10; và 1 mg hoặc μ l trong mỗi ống. Đậy kín các ống mang ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 48 đến 72 giờ, quan sát vi khuẩn mọc ở các ống chứa chế phẩm, mang đối chiếu với Bảng 13.6.1 để biết số lượng vi khuẩn có trong 1 g hoặc 1 ml chế phẩm.

Bảng 13.6.1 Số lượng vi khuẩn lớn nhất có thể có trong chế phẩm

Số mg (μ l) chế phẩm cho mỗi ống				Số lượng vi khuẩn lớn nhất có thể có trong 1 g hoặc 1 ml
	100	10	1	
Số ống có vi khuẩn mọc	0	0	0	< 3
	0	1	0	3
	1	0	0	3
	1	0	1	7
	1	1	0	7
	1	2	0	11
	2	0	0	9
	2	0	1	14
	2	1	0	15
	2	1	1	20
	2	2	0	21
	3	0	0	23
	3	0	1	38
	3	1	0	43
	3	1	1	75
	3	2	0	93
	3	2	1	150
	3	2	2	210
	3	3	0	240
	3	3	1	460
	3	3	2	1100
	3	3	3	> 1100

c) Phương pháp màng lọc:

Dùng các màng lọc có kích thước lỗ lọc không lớn hơn 0,45 μm , có khả năng giữ lại các vi khuẩn cần kiểm tra. Chọn loại màng lọc làm bằng nguyên liệu giữ lại vi khuẩn nhưng không ảnh hưởng đến mẫu thử. Thí dụ có thể dùng màng cellulose nitrat để lọc các dung dịch nước, dầu và cồn thấp độ. Dùng màng cellulose acetat để lọc dung dịch cồn cao độ. Dùng hệ thống lọc có thiết kế cho phép chuyển được màng lọc vào môi trường nuôi cấy.

Chuyển một lượng thích hợp dung dịch mẫu thử đó pha theo mục “Chuẩn bị mẫu” (tốt nhất là lấy một lượng dung dịch mẫu tương đương với 1 g hoặc 1 ml mẫu cần thử; nếu lượng vi khuẩn có nhiều trong mẫu thử, có thể lấy lượng dung dịch mẫu ít hơn). Mỗi mẫu thử cần 2 màng lọc, dung dịch mẫu thử sau khi chuẩn bị phải được lọc ngay qua màng lọc. Rửa màng lọc 3 lần, mỗi lần khoảng 100 ml dung dịch thích hợp như dung dịch đệm phosphat pH 7,2. Khi cần có thể thêm chất hoạt động bề mặt như polysorbat 80 hoặc các chất khử hoạt tính của các chất kháng khuẩn vào dung dịch dùng để rửa. Cũng có thể rửa màng lọc với số lần ít hơn, nếu thấy đủ loại hết thuốc và tác nhân ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm khỏi màng lọc. Chuyển một màng lọc lên môi trường thạch dùng phát hiện vi khuẩn. Ủ ở 30 °C đến 35 °C, theo dõi trong 48 đến 72 giờ, đếm số khuẩn lạc mọc trên màng lọc. Chuyển màng lọc còn lại lên mặt môi trường phát hiện nấm. Ủ ở 20 °C đến 25 °C, theo dõi trong 5 ngày, đếm số khuẩn lạc mọc trên màng lọc. Nếu chắc chắn về thời gian mọc của nấm cần phát hiện thì có thể theo dõi, đếm trong khoảng thời gian ngắn hơn. Chọn đếm các đĩa có số khuẩn lạc cao nhất ít hơn 100 khuẩn lạc trên màng. Tính số vi khuẩn hoặc nấm có trong 1 gam hoặc 1 ml mẫu thử.

Mẫu thử là thuốc dạng miếng đắp thấm qua da: Chuyển vô trùng 10 miếng dán vào bình đã có sẵn 500 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,2, Lắc đều trong 30 phút. Lọc qua 2 màng lọc để tìm vi khuẩn và nấm mỗi màng 50 ml dung dịch. Tiếp tục ủ, theo dõi, đếm vi khuẩn và nấm như ở trên.

Thử nghiệm tìm các vi khuẩn gây bệnh

a) Tìm *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa*

Cho một lượng chế phẩm đã pha loãng tương ứng với 1 g hoặc 1 ml chế phẩm vào 100 ml môi trường lỏng casein đậu tương, ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 18 đến 72 giờ, kiểm tra vi khuẩn mọc ở môi trường. Nếu thấy mọc, dùng que cấy lấy môi trường, cấy lên đĩa thạch Vogel - Johnson (hoặc thạch Baird - Parker hoặc thạch manitol - muối) và môi trường thạch cetrimid. Đậy đĩa, lật ngược hộp Petri, mang ủ 30 °C đến 35 °C

trong 18 đến 72 giờ. Sau khi ủ kiểm tra nếu không thấy có những khuẩn lạc với đặc tính như ghi trong Bảng 13.6.2 và Bảng 13.6.3 (nêu ở phần sau) đối với từng môi trường đã sử dụng thì chế phẩm không có *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa*. Nếu thấy có khuẩn lạc nghi ngờ thì tiếp tục làm các phản ứng sinh hóa của *Staphylococcus aureus* hoặc *Pseudomonas aeruginosa* như sau:

***Phản ứng coagulase (đối với *Staphylococcus aureus*):**

Dùng que cấy chuyển khuẩn lạc nghi ngờ đặc trưng từ mặt thạch Vogel-Johnson (hoặc thạch Baird - Parker, hoặc thạch manitol - muối) thêm vào từng ống nghiệm, mỗi ống 0,5 ml huyết tương thỏ hoặc ngựa. Đem ủ 37 °C, kiểm tra các ống sau 3 giờ ủ rồi tiếp tục ủ thêm 24 giờ. Nếu thấy có đông huyết tương (ở bất kỳ mức độ nào), chế phẩm có *Staphylococcus aureus*.

Bảng 13.6.2 - Đặc điểm hình thái của *Staphylococcus aureus* trên các môi trường lựa chọn

Môi trường	Thạch Vogel - Johnson	Thạch manitol - muối	Thạch Baird - Parker
Đặc điểm hình thái khuẩn lạc	Màu đen được bao bọc bằng một vùng vàng	Khuẩn lạc màu vàng cùng với một vùng vàng xung quanh	Khuẩn lạc màu đen bóng, viền quanh bằng một vùng sáng rõ 2 mm đến 5 mm

***Phản ứng oxydase và sinh sắc tố (đối với *Pseudomonas aeruginosa*):**

Lấy những khuẩn lạc nghi ngờ đặc trưng từ mặt môi trường thạch cetrimid cấy ria trên mặt môi trường thạch *Pseudomonas* phát hiện Fluorescein và môi trường *Pseudomonas* phát hiện Pyocyanin trong hộp Petri. Nếu nhiều khuẩn lạc cần được cấy truyền, có thể chia bề mặt hộp thành bốn phần, mỗi phần cấy một loại khuẩn lạc lựa chọn. Đậy và lật ngược hộp môi trường đã cấy truyền và ủ ở (35 ± 2) °C ít nhất 3 ngày kiểm tra đường cấy dưới ánh sáng đèn tử ngoại. Kiểm tra các đĩa để xác định có khuẩn lạc đặc trưng theo Bảng 13.6.3 hay không. Xác nhận bất kỳ khuẩn lạc nghi ngờ nào mọc trên một hoặc nhiều môi trường. Phát hiện *Pseudomonas aeruginosa* bằng phản ứng oxydase: Nhỏ ngay lên khuẩn lạc hoặc chuyển khuẩn lạc lên một mẫu (hoặc một khoan) giấy đã tẩm trước dung dịch N,N-dimethyl-phenylen diamin dihydroclorid 1 %. Nếu thấy hiện màu đỏ hồng chuyển sang màu tím, chế phẩm có *Pseudomonas aeruginosa*. Có thể xác định *Pseudomonas aeruginosa* bằng các phép thử sinh hóa và nuôi cấy thích hợp khác.

Bảng 13.6.3 - Đặc điểm hình thái của *Pseudomonas aeruginosa* trên các môi trường lựa chọn

Môi trường	Thạch cetrimid	Thạch <i>Pseudomonas</i> để phát hiện Fluorescin	Thạch <i>Pseudomonas</i> để phát hiện Pyocyanin
Đặc điểm hình thái khuẩn lạc	Màu lục nhạt thông thường	Không màu đến màu vàng nhạt	Màu vàng nhạt
Huỳnh quang ở ánh sáng tia cực tím	Màu lục	Màu hơi vàng	Màu xanh nước biển
Phản ứng oxydase	Dương tính	Dương tính	Dương tính
Nhuộm Gram	Trực khuẩn Gram âm	Trực khuẩn Gram âm	Trực khuẩn Gram âm

b) Tìm *Salmonella* và *Escherichia coli*

Cho một lượng chế phẩm đã pha loãng tương ứng với 1 g hoặc 1 ml chế phẩm vào khoảng 100 ml môi trường lỏng lactose, ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 18 đến 72 giờ. Kiểm tra nếu có vi khuẩn mọc, lắc nhẹ nhàng. Lấy 1 ml cho vào một ống chứa sẵn 10 ml hỗn hợp môi trường lỏng selenit - cystin và môi trường lỏng tetrathionat, trộn đều, ủ trong 18 giờ đến 24 giờ. Phần còn lại của môi trường lactose sẽ dùng để tìm *Escherichia coli*.

Tìm *Salmonella*: Lấy một quai cấy từ canh thang selenit cystin và tetrathionat ria lên mặt môi trường thạch xanh brilliant, môi trường thạch xylose-lysin-deoxycholat, môi trường thạch bismuth sulfit trong các đĩa Petri. Đậy đĩa, lật ngược, ủ ở 35 °C đến 37 °C trong 18 đến 72 giờ. Kiểm tra, nếu không thấy khuẩn lạc có dạng như mô tả ở Bảng 13.6.4, chế phẩm không chứa *Salmonella*.

Bảng 13.6.4 - Đặc điểm hình thái của *Salmonella* trên môi trường lựa chọn

Môi trường	Mô tả khuẩn lạc
Thạch xanh brilliant	Khuẩn lạc không màu hoặc màu hồng nhạt tới trắng đục, nhỏ, rõ nét (thường bao quanh bằng một vùng màu hồng tới đỏ)
Thạch xylose - lysin - desoxycholat	Khuẩn lạc màu đỏ, có thể chấm đen ở trung tâm
Thạch bismuth sulfit	Khuẩn lạc màu đen hoặc màu xanh

Nếu thấy khuẩn lạc có dạng như mô tả ở Bảng 13.6.4, đem nhuộm soi thấy gồm những trục khuẩn hình gậy, Gram âm, thực hiện tiếp bằng cách chuyển khuẩn lạc nghi ngờ riêng biệt sang ống môi trường thạch - sắt - ba đường (nghiêng). Trước tiên cấy ria trên mặt thạch nghiêng, sau cấy sâu xuống phần đứng của thạch, ủ ở 35 °C đến 37 °C trong 18 đến 72 giờ. Kiểm tra nếu không thấy môi trường bị kiềm hóa (màu đỏ) ở phần nghiêng và acid hóa (màu vàng) phần dựng đứng, có hoặc không có kèm theo màu đen ở phần dựng đứng do sinh H₂S, chế phẩm không chứa *Salmonella*.

Tìm *Escherichia coli*:

Cấy ria một quai cấy từ môi trường lactose đã có vi khuẩn mọc lên trên bề mặt môi trường thạch Mac - Conkey. Đậy nắp, lật ngược hộp, ủ ở 35 °C đến 37 °C trong 18 đến 72 giờ. Kiểm tra nếu không có khuẩn lạc phù hợp với mô tả ở Bảng 13.6.5 thì chế phẩm không có *Escherichia coli*. Nếu có khuẩn lạc phù hợp với mô tả ở bảng 13.6.5 thì chuyển khuẩn lạc nghi ngờ lên mặt thạch Levine - eosin - xanh methylen trong các đĩa Petri. Nếu có nhiều khuẩn lạc nghi ngờ, chia đĩa thành 4 phần, mỗi phần cấy một loại khuẩn lạc đã lựa chọn. Đậy đĩa, lật ngược, ủ ở 35 °C đến 37 °C trong 18 đến 72 giờ. Kiểm tra nếu không có những khuẩn lạc thể hiện cả hai đặc tính ánh kim dưới ánh sáng phản chiếu, và màu đen xuất hiện ở ánh sáng truyền qua, chế phẩm không có *Escherichia coli*. Kết hợp các phản ứng thử nghiệm sinh hóa và đặc điểm nuôi cấy để kết luận sự có mặt của *Escherichia coli* trong chế phẩm.

Bảng 13.6.5 - Đặc điểm hình thái của *Escherichia coli* trên môi trường thạch Mac - Conkey

Đặc điểm hình thái khuẩn lạc	Khuẩn lạc màu đỏ gạch, có thể có vùng mật kết tựa bao quanh
Nhuộm Gram	Trực khuẩn Gram âm

c) *Enterobacteria* và các vi khuẩn Gram âm khác

Phát hiện vi khuẩn: Làm đồng nhất chế phẩm đem kiểm tra bằng cách xử lý một lượng thích hợp như đã mô tả ở phần chuẩn bị mẫu và ủ ở 35 °C đến 37 °C trong một thời gian thích hợp (thường từ 2 giờ đến không quá 5 giờ) trong môi trường canh thang lactose để phục hồi lại vi khuẩn mà không làm tăng số lượng vi khuẩn. Lắc bình chứa và chuyển một lượng đã đồng nhất của chế phẩm tương đương khoảng 1 g hoặc 1 ml chế phẩm vào 100 ml môi trường lỏng Enterobacteria-Mossel và ủ ở 35 °C đến 37 °C trong 18 giờ đến 24 giờ. Cấy lên đĩa thạch muối mật violet-red ủ ở 35 °C đến 37 °C trong 18 giờ đến 48 giờ. Chế phẩm không có *Enterobacteria* nếu không thấy mọc những khuẩn lạc vi khuẩn Gram âm trên đĩa.

Đánh giá số lượng: Ủ một lượng thích hợp môi trường lỏng Enterobacteria - Mossel với những lượng chế phẩm đem kiểm tra đã được làm đồng nhất chứa 0,2 g; 0,02 g và 2 mg hoặc 0,2 ml; 0,02 ml và 2 μ l. Nếu cần có thể pha loãng chế phẩm, ủ ở 35 °C đến 37 °C trong 24 giờ đến 48 giờ. Các khuẩn lạc đã phát triển tốt thường đỏ hoặc hơi đỏ, nhuộm vi khuẩn bắt màu Gram âm, chứng tỏ kết quả dương tính. Ghi lượng nhỏ nhất của chế phẩm mà ở đó cho kết quả dương tính và lượng lớn nhất của chế phẩm mà ở đó cho kết quả âm tính. Xác định số lượng vi khuẩn theo Bảng 13.6.6.

Bảng 13.6.6- Tính lượng vi khuẩn trong chế phẩm

Kết quả đối với mỗi lượng sản phẩm			Số vi khuẩn có trong 1 gam hoặc 1 ml sản phẩm
0,2 g hoặc 0,2 ml	0,02 g hoặc 0,02 ml	0,002 g hoặc 0,002 ml	
+	+	+	Lớn hơn 500
+	+	-	Ít hơn 500 nhưng lớn hơn 50
+	-	-	Ít hơn 50 nhưng lớn hơn 5
-	-	-	Ít hơn 5

Đếm tổng số nấm mốc, và nấm men

Dùng phương pháp đĩa thạch tương tự như đếm tổng số vi khuẩn hiếu khí, nhưng sử dụng môi trường thạch Sabouraud hoặc môi trường thạch - khoai tây-glucose, ủ các đĩa ở nhiệt độ ở 20 °C đến 25 °C, theo dõi trong 5 ngày.

Tìm Clostridia

Thử nghiệm thứ nhất dùng cho những sản phẩm qui định không có Clostridia. Thử nghiệm thứ hai là bán định lượng đối với Clostridium perfringens áp dụng với những sản phẩm có tiêu chuẩn về số lượng Clostridium perfringens.

Thử nghiệm tìm Clostridia

Chuẩn bị mẫu thử như trong mục “chuẩn bị thí nghiệm”. Chuẩn bị hai mẫu, mỗi mẫu khoảng 1 g (ml). Một mẫu đem đun nóng tới 80 °C trong 10 phút rồi làm lạnh ngay. Thêm vào mỗi mẫu 100 ml môi trường tăng sinh cho Clostridia. Ủ cả hai mẫu ở điều kiện kỵ khí, ở 35 °C đến 37 °C trong 48 giờ. Sau khi ủ từ mỗi bình cấy chuyển sang một ống môi trường thạch Columbia đã thêm gentamycin và tiếp tục ủ ở

điều kiện kỵ khí ở 35 °C đến 37 °C trong 48 giờ. Nếu không thấy có vi khuẩn mọc, mẫu thử đạt yêu cầu.

Khi thấy vi khuẩn mọc, chọn một khuẩn lạc điển hình cấy chuyển sang môi trường thạch Columbia không có gentamycin và ủ ở hai điều kiện kỵ khí và hiếu khí. Khi chỉ thấy vi khuẩn mọc ở điều kiện kỵ khí, trực khuẩn Gram dương (có hoặc không có nội bào tử); phản ứng catalase âm tính tức là chế phẩm có Clostridium spp. Nếu cần, có thể so sánh hình thái của khuẩn lạc trên hai đĩa và dùng thử nghiệm catalase để loại trừ loài Bacillus spp. hiếu khí và kỵ khí tùy tiện có phản ứng catalase dương tính. Thử nghiệm này có thể thực hiện ngay trên những khuẩn lạc riêng biệt trên môi trường hoặc bằng cách chuyển vi khuẩn lên trên phiến kính và nhỏ dung dịch nước oxy già loãng, nếu thấy có sủi bọt nghĩa là phản ứng catalase dương tính.

Đếm Clostridium perfringens

Tạo mẫu thử như mô tả ở mục “chuẩn bị thí nghiệm”. Pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,2 đến các dung dịch chế phẩm có nồng độ 10^{-2} , 10^{-3} . Tiến hành xác định tổng số vi khuẩn giống như xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được mục “Tiến hành”. Mỗi lần chuyển 1 ml đã làm đồng nhất sang một ống chứa sẵn 9 ml môi trường sulfit - lactose và một ống nhỏ Durham. Lắc nhẹ nhàng và đem ủ ở $(46 \pm 0,5)$ °C trong khoảng 24 giờ đến 48 giờ.

Các ống có màu đen (sắt sulfid) và sinh hơi trong ống Durham (ít nhất 1/10 thể tích) là có Clostridium perfringens. Tính lượng Clostridium perfringens theo Bảng 13.6.1.

Những loài vi khuẩn dùng để kiểm tra đối chứng:

Thử nghiệm thứ 1: Clostridium sporogenes ATCC 19404 và NCTC 532

Thử nghiệm thứ 2: Clostridium perfringens ATCC 13124 và NCTC 8237

Nếu cần, kết hợp với dùng Clostridium sporogenes để kiểm tra điều kiện nhạy cảm và điều kiện kỵ khí.

Lặp lại thí nghiệm

Khi nghi ngờ, cần được thử nghiệm lại như hướng dẫn ở trên với một lượng chế phẩm tăng gấp đôi.

Yêu cầu giới hạn nhiễm khuẩn

Nếu không có chỉ dẫn trong chuyên luận riêng thì giới hạn nhiễm khuẩn cho các loại thuốc có quá trình sản xuất không diệt khuẩn như sau:

Bảng 13.6.7 - Yêu cầu giới hạn nhiễm khuẩn

Mức	Loại chế phẩm	Yêu cầu
1	Các chế phẩm dùng cho bông và các vết loét sâu	Không có các vi sinh vật có thể sống lại trong 1 g (ml) mẫu thử
2	Các chế phẩm dùng tại chỗ như chữa sung tấy, tổn thương, và các màng nhầy (mũi, họng, tai, âm đạo ...)	Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không quá 100 trong 1 g (ml) Mẫu thử phải không có <i>Enterobacteria</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , nấm trong 1 g (ml)
3	Các chế phẩm dùng tại chỗ cho da như kem bôi, nước thơm, dầu, dung dịch, bột...	Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không quá 500 trong 1 g (ml) Mẫu thử phải không có <i>Enterobacteria</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , nấm trong 1 g (ml)
4	Các chế phẩm dùng uống; qua trực tràng; thẩm qua da.	Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không quá 10^4 trong 1 g (ml) Tổng số <i>Enterobacteria</i> không quá 500 trong 1 g (ml) Nấm không quá 100 trong 1 g (ml) Mẫu thử phải không có <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> trong 1 g (ml)
5	Các chế phẩm có chứa các nguyên liệu có nguồn gốc thực vật, động vật không thể xử lý theo qui trình làm giảm lượng vi khuẩn.	Tổng số vi khuẩn hiếu khí sống lại được không quá $5 \cdot 10^4$ trong 1 g (ml) Nấm không quá 500 trong 1 g (ml) Tổng số <i>Enterobacteria</i> không quá 500 trong 1 g (ml) Mẫu thử phải không có <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> trong 1 g (ml)

13.7 THỬ VÔ KHUẨN

Qui định chung

Kỹ thuật này được áp dụng nhằm phát hiện sự có mặt của vi khuẩn, nấm trong các nguyên liệu, chế phẩm và dụng cụ mà theo tiêu chuẩn riêng cần phải vô khuẩn. Thử vô khuẩn phải được tiến hành trong điều kiện vô khuẩn như trong buồng thổi khí vô khuẩn hoặc trong buồng sạch để mẫu thử không bị ô nhiễm. Trong quá trình thử, mẫu không được tiếp xúc với các tác nhân có ảnh hưởng đến vi khuẩn, nấm (như: tia tử ngoại, chất sát khuẩn, nhiệt độ cao...). Các dụng cụ, dung

môi, môi trường nuôi cấy phải được tiệt khuẩn trước khi dùng.

Phương pháp thử

Nguyên tắc: Nếu vi khuẩn, nấm được cấy vào môi trường có chất dinh dưỡng và nước, được giữ ở điều kiện nhiệt độ thích hợp thì chúng sẽ phát triển. Sự có mặt của vi sinh vật làm cho môi trường biến đổi trạng thái từ trong sang đục, hoặc có cặn lắng ở đáy môi trường, hoặc thay đổi màu sắc môi trường.

Chọn một trong hai phương pháp thử thường dùng là phương pháp màng lọc hoặc phương pháp cấy trực tiếp. Khi tiến hành thử phải làm sạch bề ngoài của ống (hoặc chai, lọ, bình...) đựng chế phẩm bằng một chất sát khuẩn thích hợp. Sau đó, lấy một lượng chế phẩm đủ dùng theo qui định, cấy trực tiếp vào môi trường (nếu theo phương pháp cấy trực tiếp) hoặc đem chế phẩm sau khi đã được hòa loãng với dung môi thích hợp lọc qua màng lọc, cắt các màng lọc thành miếng nhỏ, nhúng vào môi trường (nếu theo phương pháp màng lọc). Ủ môi trường đã cấy chế phẩm hoặc cấy màng lọc trong thời gian qui định.

Chuẩn bị môi trường và dung môi

Môi trường thioglycolat (để phát hiện vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí)

Môi trường thioglycolat có thạch (dùng cho thử nghiệm những chế phẩm lỏng và trong).

Môi trường thioglycolat không có thạch (dùng cho thử nghiệm những chế phẩm đặc hoặc đặc sền sệt dạng cao).

Môi trường Soybean - casein (để phát hiện vi khuẩn hiếu khí và nấm)

Cả hai loại môi trường trên phải được pha chế và kiểm tra chất lượng theo đúng qui định ở mục "Cách pha chế và kiểm tra chất lượng các môi trường" trước khi dùng.

Dung môi dùng để hòa loãng

Khi những mẫu thử không ở dạng dung dịch lỏng, cần hòa loãng để thử nghiệm. Chất lỏng được dùng làm dung môi hòa loãng phải không có tính kháng khuẩn và không tác động đến độ xốp của màng lọc. Thường dùng các dung môi sau đây:

Dung môi A: Hòa tan 1,0 g pepton vào nước cho vừa đủ 1 lít. Lọc (hoặc ly tâm) cho trong. Điều chỉnh pH bằng $7,1 \pm 0,2$. Đựng vào nhiều bình, mỗi bình khoảng 100 ml. Hấp ở 121°C trong 15 phút.

Dung môi B: Như dung môi A, nhưng thêm 1,0 ml polysorbat 80 cho 1 lít dung môi, dùng để hòa loãng những chế phẩm thử có lecithin.

Dung môi C: Isopropyl myristat

Dùng để pha loãng những chế phẩm dạng dầu hay dung dịch dầu.

Tiến hành thử theo phương pháp màng lọc

Dụng cụ

Các dụng cụ dùng trong thử nghiệm phải đảm bảo vô khuẩn gồm:

Các ống nghiệm hoặc các bình đựng môi trường.

Bộ lọc gồm có: Phễu lọc, giá đỡ màng lọc, bình hứng, và các phụ kiện để ghép nối; hệ thống hút chân không.

Màng lọc: Thường dùng loại có đường kính lỗ lọc khoảng 0,2 µm đến 0,45 µm. Loại màng lọc cellulose nitrat được dùng cho các chế phẩm dạng nước, dạng dầu và các dung dịch cồn thấp độ. Loại màng lọc cellulose acetat được dùng cho các chế phẩm cồn cao độ. Đặc biệt đối với các chế phẩm kháng sinh cần phải chọn loại màng lọc thích hợp đảm bảo không còn dư lượng kháng sinh trên màng sau khi lọc.

Kéo cắt màng lọc.

Lượng mẫu thử cần dùng cho một lần thử nghiệm

Tùy theo từng loại mẫu thử, lấy số lượng thích hợp theo qui định ở Bảng 13.7.1

Bảng 13.7.1 - Số lượng tối thiểu của đơn vị đóng gói cho vào môi trường

Số lượng trong 1 đơn vị đóng gói	Số lượng tối thiểu cho vào môi trường
Chất lỏng (trừ kháng sinh): - Dưới 1 ml - 1 - 40 ml - Hơn 40 ml đến dưới 100 ml - Hơn 100 ml	Toàn bộ đơn vị đóng gói 1/2 đơn vị đóng gói nhưng không dưới 1 ml 20 ml 10 % đơn vị đóng gói nhưng không dưới 20 ml
Chất lỏng kháng sinh	1 ml
Các chế phẩm khác tan trong nước hoặc isopropyl myristat	Lấy lượng tương ứng với ít nhất 200 mg thuốc
Chế phẩm không tan, chế phẩm dạng kem, mỡ phải phân tán thành nhũ dịch	Lấy lượng tương ứng với ít nhất 200 mg thuốc
Chất rắn: - Dưới 50 mg - 50 đến dưới 300 mg - 300 mg đến 5 g - Hơn 5 g	Toàn bộ đơn vị đóng gói 1/2 đơn vị đóng gói nhưng không dưới 50 mg 150 mg 500 mg
Dụng cụ: - Chỉ khâu phẫu thuật và chỉ khâu dùng trong thú y - Băng, bông, gạc phẫu thuật được đóng gói kín - Chỉ khâu phẫu thuật và các dụng cụ khác được đóng gói dùng một lần - Các dụng cụ y tế khác	3 sợi (mỗi sợi dài 30 cm) 100 mg mỗi gói Toàn bộ đơn vị đóng gói Toàn bộ dụng cụ, cắt nhỏ dụng cụ hoặc tháo rời dụng cụ ra

Kỹ thuật thử

Dùng dung môi A vừa đủ để thấm ướt màng lọc. Rót lên màng lọc một lượng mẫu cần thử như qui định ở

Bảng 13.7.1. Dùng máy hút chân không để rút ngắn thời gian lọc. Rửa màng lọc ít nhất 3 lần, mỗi lần dùng 100 ml dung môi vô khuẩn thích hợp. Lấy màng lọc ra khỏi giá đỡ trong phễu lọc. Trong điều kiện vô trùng, cắt màng lọc thành 2 phần. Ngâm một phần vào môi trường thioglycolat và ủ ở 30 °C đến 35 °C ít nhất 14 ngày, và ngâm phần còn lại trong môi trường soybean - casein và ủ ở 20 °C đến 25 °C ít nhất 14 ngày, nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

Khi mẫu thử có tính kháng khuẩn, rửa màng lọc ít nhất ba lần bằng cách lọc qua màng dung môi tiệt trùng đã chọn dùng cho thử nghiệm. Làm thí nghiệm kiểm tra để biết chắc chắn không còn chất kháng khuẩn của mẫu thử hấp thụ trên màng.

Nếu mẫu thử là dụng cụ (bộ dây truyền, túi lọc máu...) thì dùng 100 ml dung môi B cho chảy qua dụng cụ. Hứng lấy dung môi, rót lên màng lọc đã được thấm ướt bằng dung môi A, rồi làm tiếp theo kỹ thuật ghi ở mục kỹ thuật thử.

Tiến hành thử theo phương pháp cấy trực tiếp

Dụng cụ

Các dụng cụ dùng cho thử nghiệm đều phải đảm bảo vô khuẩn mới được sử dụng vào thử nghiệm. Dụng cụ dùng cho phương pháp cấy trực tiếp gồm: Bơm tiêm, pipet, các ống nghiệm hoặc các bình đựng môi trường.

Lượng chế phẩm cần dùng để thử nghiệm

Tùy theo từng loại mẫu thử, lấy lượng chế phẩm thích hợp theo qui định ở Bảng 13.7.1.

Kỹ thuật thử

Dùng bơm tiêm hoặc pipet lấy mẫu thử theo số liệu ở Bảng 13.7.1 cấy vào hai loại môi trường. Nếu mẫu thử là chất rắn thì cấy trực tiếp vào môi trường và chú ý lắc để mẫu thử phân tán đều trong môi trường. Nếu không có chỉ dẫn ở chuyên luận riêng thì ủ môi trường phát hiện vi khuẩn ở 30 °C đến 35 °C, thời gian ít nhất 14 ngày; ủ môi trường phát hiện nấm ở 20 °C đến 25 °C, thời gian ít nhất 14 ngày; thường xuyên theo dõi các môi trường đã cấy. Nếu chế phẩm làm đục môi trường, để có thể dễ dàng quan sát sự phát triển của vi sinh vật, sau khi ủ môi trường 14 ngày, nên chuyển một phần nhỏ môi trường này sang một loạt môi trường mới cùng loại. Tiếp tục ủ các ống môi trường đã cấy lại ít nhất 4 ngày.

Trường hợp mẫu thử là băng, gạc, chỉ khâu phẫu thuật: Nếu kích thước và hình dạng cho phép, nhúng toàn bộ mẫu thử vào 100 ml môi trường tương ứng. Trường hợp mẫu thử là dụng cụ (bộ dây truyền, túi lọc máu, ...) thì cắt dụng cụ làm 3 phần và cấy vào ít nhất 100 ml mỗi loại môi trường nuôi cấy. Ủ và đọc kết quả như đã ghi ở trên.

Theo dõi và đánh giá kết quả

Trong suốt thời gian ủ, hàng ngày phải quan sát các môi trường đã cấy màng lọc hoặc mẫu thử. Nếu không thấy có vi khuẩn, nấm mọc trong suốt thời gian qui định, mẫu thử được coi là đạt tiêu chuẩn vô khuẩn.

Nếu có từ 1 trở lên trong số các môi trường nuôi cấy, có vi khuẩn hoặc nấm mọc, cần phải:

Rà soát lại qui trình thử.

Thử lại các mẫu thử nghi ngờ.

Giữ lại các môi trường có vi khuẩn, nấm mọc.

Tiến hành phân lập, so sánh vi khuẩn hoặc nấm mọc trên môi trường mới với vi khuẩn hoặc nấm đã mọc ở môi trường cũ.

Nếu trên tiêu bản phân lập, vi khuẩn (hoặc nấm) giống với tiêu bản làm lần đầu, mẫu thử được coi là không đạt tiêu chuẩn vô khuẩn.

Nếu trên tiêu bản phân lập, vi khuẩn (hoặc nấm) khác biệt so với lần thí nghiệm đầu tiên, cần thực hiện phép thử lặp lại với số lượng mẫu gấp đôi. Nếu không phát hiện thấy vi khuẩn (hoặc nấm), mẫu thử được coi là đạt tiêu chuẩn vô khuẩn. Nếu vẫn thấy vi khuẩn (hoặc nấm) mọc ở lần lặp lại này, mẫu thử được coi là không đạt tiêu chuẩn vô khuẩn.

Cách pha chế và kiểm tra chất lượng các môi trường

Môi trường để phát hiện các vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí

Môi trường thioglycolat có thạch:

L - Cystin	0,50 g
Natri clorid	2,50 g
Dextrose ($C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$)	5,50 g
Thạch bột (có độ ẩm nhỏ hơn 15%)	0,75 g
Cao nấm men (có khả năng tan trong nước)	5,00 g
Casein thủy phân bởi pancreatin	15,00 g
Natri thioglycolat	0,50 g
(hoặc acid thioglycolic 0,3 ml)	
Resazurin (dung dịch 0,1% mới pha)	1,0 ml
Nước	1000 ml

pH sau khi tiệt khuẩn: $7,1 \pm 0,2$

Trộn tất cả các thành phần theo thứ tự đã ghi ở trên (trừ resazurin và natri thioglycolat) trong cối nghiền, thêm vào một ít nước nóng, trộn kỹ, chuyển sang dụng cụ thích hợp. Thêm số nước còn lại, đun hỗn hợp cách thủy sôi đến khi tạo thành dung dịch trong. Thêm natri thioglycolat, dùng dung dịch natri hydroxyd 1N điều chỉnh sao cho môi trường sau khi tiệt khuẩn có pH $7,1 \pm 0,2$. Đun nóng lại dung dịch (tránh đun sôi). Lọc (nếu cần) qua giấy lọc đã thấm ướt, rồi thêm dung dịch resazurin, trộn đều. Đóng môi trường vào các ống nghiệm (hoặc bình) thích hợp, hấp vô khuẩn ở $121^\circ C$ trong 15 phút. Lấy ra làm nguội nhanh tới $25^\circ C$, tiếp tục bảo quản ở nhiệt độ $2^\circ C$ đến $25^\circ C$, tránh ánh sáng. Nếu 1/3 thể tích phía trên của ống (hoặc bình) môi trường có màu hồng, môi trường không thích hợp để thử nghiệm. Có thể phục hồi lại môi trường bằng cách đun cách thủy cho mất màu rồi làm lạnh đột ngột. Chỉ sử dụng môi trường đã phục hồi này một lần.

Môi trường thioglycolat không có thạch

Dùng cho thử nghiệm những chế phẩm đục hoặc đặc sền sệt dạng cao.

L-Cystin	0,50 g
Natri clorid	2,50 g
Dextrose ($C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$)	5,50 g
Cao nấm men (có khả năng tan trong nước)	5,00 g
Casein thủy phân bởi pancreatin	15,0 g
Natri thioglycolat	0,50 g

(hoặc acid thioglycolic 0,3 ml)

Resazurin (dung dịch 0,1% mới pha)	1 ml
Nước	1000 ml

pH sau khi tiệt khuẩn: $7,1 \pm 0,2$

Cách pha chế giống như môi trường thioglycolat có thạch.

Môi trường phát hiện vi khuẩn hiếu khí và nấm

Môi trường Soybean - casein

Casein thủy phân bởi pancreatin	17,0 g
Bột đậu tương thủy phân bởi papain	3,0 g
Natri clorid	5,0 g
Dikali hydrophosphat	2,5 g
Dextrose monohydrat	2,5 g
Nước	1000 ml

pH sau khi tiệt khuẩn: $7,3 \pm 0,2$

Hòa tan tất cả các chất rắn trong nước, đun nóng nhẹ để cho tan hoàn toàn. Để nguội ở nhiệt độ phòng. Dùng dung dịch natri hydroxyd 1 N để điều chỉnh (nếu cần) sao cho pH sau khi tiệt khuẩn từ 7,1 đến 7,5. Lọc (nếu cần) để cho môi trường trong. Phân chia vào những dụng cụ thích hợp, hấp tiệt khuẩn ở $121^\circ C$ trong 15 phút.

Kiểm tra chất lượng môi trường

a) Độ vô khuẩn

Lấy ngẫu nhiên một vài ống (hoặc bình) môi trường mới sản xuất, đem ủ ở nhiệt độ $30^\circ C$ đến $35^\circ C$ trong 14 ngày đối với những loại môi trường dùng nuôi cấy vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí; ủ ở nhiệt độ $20^\circ C$ đến $25^\circ C$ trong 14 ngày đối với những loại môi trường dùng nuôi cấy vi khuẩn, nấm. Các loại môi trường phải không được có vi khuẩn, nấm mọc.

b) Khả năng dinh dưỡng

Cấy vào môi trường dùng để thí nghiệm khoảng 100 tế bào sống của những loại vi khuẩn sau:

Loại hiếu khí dùng *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Loại vi khuẩn hiếu khí có nha bào dùng *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

Loại vi khuẩn kỵ khí dùng *Clostridium sporogenes* ATCC 9404.

Loại nấm dùng *Candida albicans* ATCC 10231.

Aspergillus niger ATCC 16404.

Mỗi loại chủng chỉ thị được cấy vào loại môi trường tương ứng, rồi mang ủ ở nhiệt độ thích hợp cho từng loại ít nhất 3 ngày đối với vi khuẩn và ít nhất 5 ngày đối với nấm. Trên mỗi loại môi trường, sau thời gian ủ đều phải thấy vi khuẩn mọc tốt.

c) Kiểm tra tác dụng ức chế ở mẫu mang thử

Một số chế phẩm do yêu cầu của sản xuất hoặc ở những chế phẩm mới người ta đã cho thêm chất bảo quản. Loại chế phẩm này có ảnh hưởng đến sự phát triển của vi khuẩn, nấm mốc, nên cần phải kiểm tra tác dụng ức chế của chúng đối với vi khuẩn, nấm.

Đối với vi khuẩn kỵ khí

Dùng 4 ống môi trường phát hiện vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí. Hai ống dùng làm chứng chỉ cấy vào mỗi ống chúng này 100 bào tử vi khuẩn kỵ khí *Clostridium sporogenes* ATCC 9404. Hai ống còn lại cấy vào mỗi ống một lượng bằng nhau chế phẩm cần kiểm tra, rồi cũng cấy vào mỗi ống 100 bào tử *Clostridium sporogenes* ATCC 9404. Đem ủ tất cả các ống ở 30 °C đến 35 °C không quá 5 ngày.

Đối với vi khuẩn hiếu khí

Dùng 4 ống môi trường phát hiện vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí. Hai ống dùng làm chứng chỉ cấy vào mỗi ống chúng này 100 tế bào vi khuẩn hiếu khí *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Hai ống còn lại cấy vào mỗi ống một lượng bằng nhau chế phẩm cần kiểm tra, và cũng cấy vào mỗi ống 100 tế bào *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Đem ủ tất cả các ống ở 30 °C đến 35 °C không quá 5 ngày.

Đối với nấm

Dùng 4 ống môi trường phát hiện vi khuẩn hiếu khí và nấm. Hai ống dùng làm chứng chỉ cấy vào mỗi ống chúng này 100 tế bào nấm *Candida albicans* ATCC 10231. Hai ống còn lại, cấy vào mỗi ống 100 tế bào nấm *Candida albicans* ATCC 10231 và một lượng chế phẩm bằng nhau. Đem ủ tất cả các ống ở 20 °C đến 25 °C không quá 5 ngày.

Đánh giá kết quả

Nếu trong thời gian ủ, vi khuẩn, nấm mọc tốt, (dễ dàng và phong phú), đối với từng loại, mọc giống nhau giữa ống kiểm tra và ống chứng: Mẫu thử không còn tác dụng ức chế trong điều kiện thí nghiệm.

Nếu trên các ống môi trường có cấy mẫu thử, vi khuẩn, nấm mọc yếu, chậm phát triển hoặc không phát triển so với ống chứng vẫn mọc tốt: Mẫu thử vẫn còn tác dụng ức chế trong điều kiện thí nghiệm. Phải loại bỏ tác dụng ức chế.

Tác dụng ức chế của mẫu thử có thể loại bỏ được một cách có kết quả bằng cách lọc qua màng lọc vi khuẩn.

13.8 XÁC ĐỊNH HIỆU QUẢ KHÁNG KHUẨN CỦA CHẤT BẢO QUẢN

Chất bảo quản là những chất được thêm vào các chế phẩm phân liều không vô trùng, nhất là các loại thuốc nước, để ngăn chặn sự phát triển của vi sinh vật có sẵn trong chế phẩm hay nhiễm vào chế phẩm trong quá trình sản xuất. Chất bảo quản cũng được thêm vào các chế phẩm vô trùng đa liều để ức chế sự phát triển của

vi sinh vật nhiễm vào chế phẩm sau khi mở ra sử dụng.

Không được dùng chất bảo quản như một biện pháp thay thế cho thực hành tốt sản xuất thuốc, không được dùng chất bảo quản với mục đích duy nhất là làm giảm số lượng vi sinh vật trong chế phẩm không vô trùng hoặc để làm tăng hiệu quả của quá trình tiệt trùng đối với chế phẩm vô trùng đa liều.

Đa số các chất bảo quản là những hợp chất độc. Do đó, để bảo đảm an toàn, nồng độ chất bảo quản trong sản phẩm cuối phải thấp hơn mức có thể gây nguy hiểm cho người sử dụng.

Nồng độ chất bảo quản cần dùng có thể giảm đến mức tối thiểu nếu một hay nhiều hoạt chất trong công thức pha chế có khả năng kháng khuẩn và/hoặc kháng nấm. Chất bảo quản và nồng độ sử dụng của nó phải ghi rõ trên bao bì của sản phẩm.

Hiệu quả bảo vệ sản phẩm của chất bảo quản phải được xác định ngay từ giai đoạn nghiên cứu và phát triển sản phẩm. Phương pháp xác định hiệu quả kháng khuẩn của chất bảo quản được trình bày dưới đây.

Nguyên tắc của phương pháp là cấy một hỗn dịch vi sinh vật chỉ thị thích hợp vào chế phẩm cần thử, tốt nhất là cấy trực tiếp vào bao bì đóng gói cuối cùng của sản phẩm, nếu có thể. Ủ chế phẩm đã cấy vi sinh vật ở nhiệt độ thích hợp, sau đó lấy mẫu và đếm số lượng vi sinh vật sống còn lại trong sản phẩm sau mỗi khoảng thời gian ủ nhất định. Việc sử dụng chất bảo quản được xem là có hiệu quả nếu số lượng vi sinh vật giảm đáng kể hoặc không tăng theo thời gian.

Tiêu chuẩn để đánh giá hiệu quả kháng khuẩn của chất bảo quản tùy theo loại chế phẩm và đường dùng thuốc (xem Bảng 13.8.1).

Phân loại chế phẩm

Đối tượng của thử nghiệm xác định hiệu quả kháng khuẩn của chất bảo quản là các loại chế phẩm có thành phần chính là nước hay có sử dụng nước làm tá dược. Các chế phẩm này được chia thành 4 nhóm như sau:

Bảng 13.8.1

Loại chế phẩm	Mô tả
1	Thuốc tiêm và thuốc dùng ngoài đường tiêu hóa bao gồm nhũ dịch, thuốc nhỏ tai, thuốc nhỏ mắt và thuốc nhỏ mũi vô trùng.
2	Thuốc nhỏ mũi không vô trùng, các chế phẩm dùng cho màng nhầy, các chế phẩm dùng ngoài da, bao gồm cả các nhũ dịch.
3	Các loại thuốc uống (trừ thuốc kháng acid).
4	Thuốc uống kháng acid

Vi sinh vật chỉ thị

Aspergillus niger ATCC 16404 (IP 1431.83, IMI 149 007).

Candida albicans ATCC 10231 (IP 48.72, NCPF 3179)

Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 (CIP 82.118, NCIMB 8626).

Staphylococcus aureus ATCC 6538 (CIP 4.83, NCTC 10788).

Môi trường nuôi cấy

Tất cả các môi trường sử dụng trong phụ lục này phải được kiểm tra khả năng dinh dưỡng, dùng các vi sinh vật chỉ thị nêu trên để thử, trước khi dùng.

trong dung dịch natri clorid vô trùng 0,9 % để được hỗn dịch có khoảng 10^8 cfu/ml.

Đếm số lượng tế bào sống của mỗi hỗn dịch thu được bằng phương pháp đĩa thạch (xem Phụ lục 13.6 Thử giới hạn nhiễm khuẩn). Kết quả đếm (cfu/ml) được dùng để xác định lượng vi sinh vật đã cấy vào chế phẩm cần thử tại thời điểm bắt đầu thử nghiệm.

Bảo quản các hỗn dịch vi sinh vật chỉ thị trong tủ lạnh nếu không dùng ngay trong vòng 2 giờ. Các hỗn dịch vi khuẩn và *C. albicans* phải dùng trong vòng 24 giờ sau khi thu hoạch, hỗn dịch *A. niger* có thể bảo quản trong tủ lạnh trong 7 ngày.

Bảng 13.8.2. Điều kiện nuôi cấy vi sinh vật

Vi sinh vật chỉ thị	Môi trường nuôi cấy	Nhiệt độ ủ	Thời gian ủ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Môi trường lỏng casein đậu tương Môi trường thạch casein đậu tương	30 °C đến 35 °C	18 giờ đến 24 giờ
<i>Staphylococcus aureus</i>	Môi trường lỏng casein đậu tương Môi trường thạch casein đậu tương	30 °C đến 35 °C	18 giờ đến 24 giờ
<i>Candida albicans</i>	Môi trường Sabouraud lỏng Môi trường thạch Sabouraud	20 °C đến 25 °C	44 giờ đến 52 giờ
<i>Aspergillus niger</i>	Môi trường Sabouraud lỏng Môi trường thạch Sabouraud	20 °C đến 25 °C	6 ngày đến 10 ngày

Chuẩn bị hỗn dịch vi sinh vật chỉ thị

Cây riêng rẽ chủng vi sinh vật chỉ thị lên bề mặt môi trường rắn thích hợp, có thể sử dụng môi trường giới thiệu ở Bảng 13.8.2 hoặc môi trường khác có sẵn trên thị trường có cùng công dụng và có khả năng dinh dưỡng tương đương, sau đó ủ trong điều kiện như qui định ở Bảng 13.8.2. (xem Phụ lục 13.6. Thử giới hạn nhiễm khuẩn để biết thành phần của các môi trường dinh dưỡng).

Sau khi ủ, nếu cần, có thể tiếp tục cấy chuyển vi sinh vật thu được sang bề mặt môi trường dinh dưỡng mới, cho đến khi thu được vi sinh vật ở trong trạng thái phát triển tốt nhất. Tuy nhiên, số lần cấy chuyển không được quá 5 lần từ chủng gốc ban đầu.

Rửa bề mặt môi trường nuôi cấy các vi khuẩn và *C. albicans* bằng dung dịch natri clorid vô trùng 0,9 %, tập trung dịch rửa vào vật đựng thích hợp và bổ sung dung dịch natri clorid vô trùng 0,9 % để thu được hỗn dịch có khoảng 10^8 vi sinh vật sống (cfu) trong một ml. Để thu hoạch bào tử *A. niger*, cũng tiến hành như trên nhưng dùng dung dịch natri clorid vô trùng 0,9 % có chứa 0,05 % polysorbat 80, thêm dung dịch natri clorid vô trùng 0,9 % để được hỗn dịch có khoảng 10^8 cfu/ml.

Ngoài ra, có thể tăng sinh chủng gốc của mỗi vi sinh vật chỉ thị trong môi trường lỏng thích hợp, ví dụ môi trường giới thiệu ở Bảng 13.8.2, thu hoạch vi sinh vật chỉ thị bằng cách ly tâm, sau đó rửa và phân tán lại

Tiến hành

Cây riêng rẽ từng hỗn dịch chủng vi sinh vật chỉ thị đã được chuẩn bị như trên trực tiếp vào 4 đơn vị đóng gói cuối cùng của chế phẩm cần thử, lắc kỹ để trộn đều. Thể tích hỗn dịch vi sinh vật cấy vào các đơn vị đóng gói được tính toán sao cho nồng độ vi sinh vật chỉ thị trong chế phẩm cần thử ngay sau khi cấy khoảng từ 10^5 cfu/ml đến 10^6 cfu/ml đối với chế phẩm loại 1, 2 và 3, khoảng 10^3 cfu/ml đến 10^4 cfu/ml đối với chế phẩm loại 4. Thể tích hỗn dịch đem cấy không được vượt quá 1 % thể tích chế phẩm cần thử, tốt nhất là từ 0,5 % đến 1 %. Nếu không thể cấy vi sinh vật chỉ thị trực tiếp vào đơn vị đóng gói cuối cùng của sản phẩm, chuyển một thể tích đủ lớn của chế phẩm cần thử, ít nhất 20 ml, vào 4 vật chứa vô trùng có thể tích thích hợp, có nắp kín và tiếp tục tiến hành như trên.

Ủ các vật chứa đã cấy vi sinh vật chỉ thị ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C, tránh ánh sáng. Lấy mẫu từ mỗi vật chứa lúc 0 giờ và sau những khoảng thời gian ủ nhất định như qui định ở Bảng 13.8.3, lượng mẫu cần lấy thường là 1 ml hoặc 1 g.

Ghi chép mọi thay đổi về mặt cảm quan của chế phẩm cần thử trong quá trình ủ. Xác định số lượng vi sinh vật tại mỗi thời điểm lấy mẫu bằng phương pháp đĩa thạch, dùng môi trường dinh dưỡng và nhiệt độ ủ như qui định ở Bảng 13.8.2, thời gian ủ từ 3 ngày đến 5 ngày đối các vi khuẩn và *C. albicans*, 3 ngày đến 7 ngày đối với *A. niger*.

Phải bảo đảm loại bỏ hoàn toàn hoạt tính kháng khuẩn và/hoặc kháng nấm của chế phẩm cần thử bằng phương pháp pha loãng, lọc, hay dùng chất trung hòa. Nếu sử dụng phương pháp pha loãng, điểm cần chú ý là độ chính xác của kết quả đếm sẽ giảm khi số lượng vi sinh vật khá nhỏ (nhỏ hơn 30 cfu/hộp đối với phương pháp hộp thạch, dùng hộp petri có đường kính từ 90 mm đến 100 mm). Nếu sử dụng chất trung hòa, phải có biện pháp kiểm tra thích hợp để bảo đảm nồng độ chất trung hòa đã dùng đủ để loại bỏ hoàn toàn hoạt tính kháng khuẩn của chế phẩm cần thử và để bảo đảm bản thân chất trung hòa không gây bất cứ ảnh hưởng bất lợi nào đến sự phát triển của vi sinh vật chỉ thị. Dùng nồng độ vi sinh vật chỉ thị, tính bằng cfu/ml, tại thời điểm bắt đầu thử nghiệm (R_0) và nồng độ vi sinh vật sống đếm được tại mỗi thời điểm lấy mẫu “t” (R_t), tính lượng giảm đi của mỗi vi sinh vật chỉ thị tại thời điểm đó (R):

$$R \text{ (cfu/ml)} = R_0 - R_t$$

Biểu diễn kết quả dưới dạng $\log_{10}$ của R.

Nguyên tắc đánh giá hiệu quả kháng vi sinh vật của chất bảo quản

Hiệu quả kháng khuẩn của chất bảo quản hay hệ chất bảo quản được xem là đạt yêu cầu nếu kết quả thử nghiệm thỏa mãn các nguyên tắc đánh giá ở các Bảng 13.8.3. Số lượng vi sinh vật chỉ thị tại một thời điểm tăng không nhiều hơn 0,5 $\log_{10}$ cfu/ml so với kết quả đếm ở thời điểm gần kề trước đó thì được xem là “không tăng”.

Bảng 13.8.3. A. Chế phẩm loại 1

	Log R		
	7 ngày	14 ngày	28 ngày
Vi khuẩn	$\geq 1,0$	$\geq 3,0$	Không tăng
Nấm men, nấm mốc	Không tăng	Không tăng	Không tăng

Bảng 13.8.3. B. Chế phẩm loại 2

	Log R		
	7 ngày	14 ngày	28 ngày
Vi khuẩn	-	$\geq 2,0$	Không tăng
Nấm men, nấm mốc	-	Không tăng	Không tăng

Bảng 13.8.3. C. Chế phẩm loại 3

	Log R		
	7 ngày	14 ngày	28 ngày
Vi khuẩn	-	$\geq 1,0$	Không tăng
Nấm men, nấm mốc	-	Không tăng	Không tăng

Bảng 13.8.3. D. Chế phẩm loại 4

	Log R		
	7 ngày	14 ngày	28 ngày
Vi khuẩn	-	Không tăng	Không tăng
Nấm men, nấm mốc	-	Không tăng	Không tăng

13.9 XÁC ĐỊNH HOẠT LỰC THUỐC KHÁNG SINH BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỬ VI SINH VẬT

Hoạt lực kháng sinh được thể hiện bằng khả năng ức chế một loại chủng chỉ thị nào đó ở điều kiện thích hợp. Sự giảm hoạt tính sinh học của kháng sinh được thể hiện trên chủng chỉ thị nên rất khó có thể phát hiện bằng phương pháp phân tích hoá học, vì vậy, phương pháp vi sinh vật thường giữ một vai trò quan trọng trong việc đánh giá khả năng mất hoạt lực của kháng sinh, nhất là những loại kháng sinh có cấu trúc phức tạp hoặc thành phần gồm một hỗn hợp kháng sinh cùng họ mà mức độ hoạt lực chênh lệch nhau không nhiều.

Phương pháp vi sinh vật xác định hoạt lực của một kháng sinh bằng cách so sánh khả năng ức chế sự phát triển của một loại vi sinh vật (được gọi là chủng chỉ thị) bởi những độ pha loãng đã biết của kháng sinh mang thử (chưa biết rõ hoạt lực) với khả năng ức chế bởi nồng độ đã biết của kháng sinh đối chiếu (chất chuẩn đã biết rõ hoạt lực).

Thử nghiệm phải dùng phương pháp phân tích thống kê để đánh giá những số liệu thu được. Nếu áp dụng mô hình đường thẳng song song, hai đường log liều - đáp ứng của chất chuẩn và chế phẩm thử phải song song với nhau và phải tuyến tính trong khoảng liều đã dùng.

Hai phương pháp thường được sử dụng trong kiểm nghiệm là phương pháp khuếch tán dùng môi trường thạch và phương pháp đo độ đục dùng môi trường lỏng.

Phương pháp thứ nhất dựa vào sự khuếch tán của kháng sinh từ chỗ chứa qua lớp thạch đặc ở hộp Petri hoặc khay vào khoảng phát triển của vi sinh vật tạo ra một vòng ức chế hoàn toàn xung quanh nơi chứa (ống trụ, lỗ thạch) dung dịch kháng sinh.

Phương pháp ống nghiệm dựa vào độ đục của canh khuẩn, biết được sự ức chế phát triển của vi khuẩn gây ra bởi một loạt dung dịch kháng sinh trong môi trường lỏng là môi trường thích hợp đối với sự phát triển của vi sinh vật khi không có kháng sinh.

Phương tiện và dụng cụ

Tất cả các dụng cụ phải được làm sạch hoàn toàn trước và sau mỗi lần thí nghiệm. Những dụng cụ thủy tinh và những đồ đựng khác dùng trong thí nghiệm

phải được loại hết vi khuẩn và chất ảnh hưởng. Các dụng cụ dùng để giữ và chuyển chủng chỉ thị cần làm sạch cẩn thận và tiệt khuẩn bằng sức nóng khô hoặc hơi nước ở điều kiện thích hợp.

Điều kiện nhiệt độ: Khi nuôi cấy chủng chỉ thị và chế tạo nhũ dịch cấy truyền, cần thực hiện trong môi trường đảm bảo nhiệt độ qui định. Đối với phương pháp đo độ đục, cần kiểm tra chặt chẽ buồng điều khiển nhiệt độ sao cho nhiệt độ quanh các ống nghiệm phải đồng đều và phải đạt được nhiệt độ cần thiết trong ống nghiệm. Nên dùng điều nhiệt bằng nước luân chuyển sẽ tốt hơn điều nhiệt bằng không khí.

Máy đo quang phổ: Dùng dụng cụ để đo sự truyền qua hoặc hấp thụ trong khoảng sóng khá hẹp, do đó cần có máy đo quang thích hợp có thể thay đổi được bước sóng hoặc dùng dụng cụ kính lọc 650 nm hoặc 580 nm để đo nhũ dịch nuôi cấy đã pha chế và dụng cụ kính lọc 530 nm để đo độ hấp thụ ánh sáng ở phương pháp đo độ đục. Dụng cụ thang đã tiến hành như mẫu nhưng thêm ngay dung dịch formaldehyd để chỉnh máy cho độ hấp thụ về điểm "0".

Dụng cụ thí nghiệm:

Phương pháp khuếch tán: Dùng các khay hoặc đĩa Petri bằng thủy tinh hoặc plastic, đạt tiêu chuẩn bằng phẳng. Đĩa Petri có hai loại, cỡ nhỏ đường kính 100 mm, cỡ lớn đường kính lớn hơn 160 mm. Các khay thí nghiệm đã được tiêu chuẩn hoá, bằng kính hoặc plastic với kích thước 25 cm × 25 cm (loại vuông) hoặc 28,8 cm × 19,8 cm (loại chữ nhật).

Ống trụ bằng thép không gỉ, bằng thủy tinh, hoặc bằng sứ, có kích thước như sau: Đường kính ngoài 8,0 mm; đường kính trong 6,0 mm; cao 10,0 mm.

Vật liệu dùng làm ống trụ phải là loại trơ, riêng đối với kháng sinh nhạy cảm với ánh sáng phải dùng vật liệu có pha màu nâu. Khi dùng phải làm sạch cẩn thận, loại hết cặn, khử khuẩn. Đôi khi phải rửa bằng acid như dung dịch acid nitric 2 M, hoặc acid sulfocromic.

Phương pháp đo độ đục: Dùng các ống nghiệm loại 16 mm × 125 mm hoặc 18 mm × 150 mm bằng thủy tinh có cùng chiều dài, đường kính và độ dày, bề mặt phải không có vết xước, không dây bẩn. Khi dùng, ống nghiệm phải sạch hoàn toàn, đảm bảo không còn vết kháng sinh hoặc vết các chất tẩy rửa và phải tiệt khuẩn trước khi dùng.

Môi trường, dung môi và chất pha loãng

Phải dùng các chất đạt từ mức tinh khiết hoá học trở lên để pha chế.

Môi trường

Dưới đây là công thức môi trường cần thiết dùng cho kiểm nghiệm kháng sinh. Các loại môi trường này có thể được thay thế bằng môi trường khô tương ứng hoặc bằng một loại môi trường thúc đẩy vi sinh vật

phát triển tốt hơn mà cùng cho một đường đáp ứng tương tự. Pha môi trường bằng cách hòa tan thành phần trong công thức vào một phần nước, sau đó thêm nước vừa đủ một lít. Dùng dung dịch acid hydrocloric 1 N hoặc dung dịch natri hydroxyd 1 N để điều chỉnh sao cho sau khi tiệt khuẩn ở 121 °C trong 15 phút môi trường có pH như ghi trong công thức. Thời gian cần cho việc tiệt khuẩn có thể kéo dài tới 30 phút đối với những môi trường có thể tích lớn hơn 500 ml.

Môi trường số 1

Pepton	6,0 g
Casein thủy phân bởi pancreatin	4,0 g
Cao thịt bò	3,0 g
Cao nấm men	3,0 g
Glucose monohydrat	1,0 g
Thạch	15,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 2

Casein thủy phân bởi pancreatin	17,0 g
Casein thủy phân bởi papain	3,0 g
Natri clorid	5,0 g
Dikali hydrophosphat	2,5 g
Glucose monohydrat	2,5 g
Thạch	15,0 g
Polysorbat 80	10,0 g
Nước cất	1000 ml

Hòa tan các thành phần (trừ polysorbat 80) trong nước, đun sôi, thêm polysorbat 80 ngay trước khi thêm nước vừa đủ.

Môi trường số 3

Pepton	6,0 g
Cao thịt bò	1,5 g
Cao nấm men	3,0 g
Natri clorid	3,5 g
Glucose monohydrat	1,0 g
Dikali hydrophosphat	3,68 g
Kali dihydrophosphat	1,32 g
Nước cất	1000 ml

Môi trường số 4

Dịch chiết tim	1,5 g
Cao nấm men	1,5 g
Pepton - casein	5,0 g
Glucose monohydrat	1,0 g
Natri clorid	3,5 g
Dikali hydrophosphat	3,68 g
Kali dihydrophosphat	1,32 g
Kali nitrat	2,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 5

Pepton	5,0 g
Cao thịt	3,0 g
Dikali hydrophosphat .12H ₂ O	26,9 g
Thạch	10,0 g
Nước	1000 ml

Sau khi tiệt khuẩn môi trường, thêm dikali hydrophosphat dưới dạng dung dịch vô khuẩn vào môi trường.

Môi trường số 6

Pepton	9,4 g
Cao nấm men	4,7 g
Cao thịt bò	2,4 g
Natri clorid	10,0 g
Glucose monohydrat	10,0 g
Thạch	23,5 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 7

Glycerol	10,0 g
Pepton	10,0 g
Cao thịt bò	10,0 g
Natri clorid	3,0 g
Thạch	15,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 8

D-glucose	10,0 g
Tryptone	6,0 g
Cao nấm men	2,0 g
Nước vừa đủ	1000 ml

Môi trường số 9

Pepton	6,0 g
Casein thủy phân bởi pancreatin	4,0 g
Cao nấm men	3,0 g
Glucose monohydrat	1,0 g
Thạch	20,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 10

Pepton	6,0 g
Cao thịt bò	1,5 g
Cao nấm men	6,0 g
Glucose	1,0 g
Thạch	15,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 11

Pepton	5,0 g
Cao thịt bò	3,0 g
Thạch	15,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 12

Pepton	10,0 g
Cao thịt	3,0 g
Natri clorid	30,0 g
Thạch	20,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 13

Pepton	6,0 g
Cao nấm men	3,0 g
Cao thịt bò	1,5 g
Thạch	20,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 14

Pepton	6,0 g
Cao nấm men	3,0 g
Cao thịt bò	1,5 g
Thạch	15,0 g
Nước	1000 ml

Dung môi và chất pha loãng

Dung môi và chất pha loãng dùng trong thí nghiệm phải không ảnh hưởng đến sự phát triển của vi sinh vật. Chúng được dùng để pha các dung dịch theo yêu cầu trong từng thí nghiệm. Các loại dung môi như nước vô khuẩn, acid hydrocloric, ethanol, dimethylformamid và các dung dịch đệm có dải pH khác nhau hoặc các loại khác tùy thuộc vào từng kháng sinh riêng biệt.

Dung dịch đệm số 1 đến 12 được pha chế bằng cách: Lấy 50,0 ml dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M, thêm dung dịch natri hydroxyd 0,2 M với lượng thể tích ghi ở Bảng 13.9.1. Thêm nước vừa đủ 200 ml.

Bảng 13.9.1. Thành phần dung dịch đệm

Số dung dịch đệm	pH ($\pm 0,1$)	Dung dịch natri hydroxyd 0,2 M
1	5,8	3,72
2	6,0	5,70
3	6,2	8,60
4	6,4	12,60
5	6,6	17,80
6	6,8	23,65
7	7,0	29,63
8	7,2	35,00
9	7,4	39,50
10	7,6	42,80
11	7,8	45,20
12	8,0	46,80

Dung dịch đệm số 13 (pH $6,8 \pm 0,1$): Hòa tan 6,4 g kali dihydrophosphat và 18,9 g dinatri hydrophosphat trong 1000 ml nước.

Dung dịch đệm số 14 (pH $10,5 \pm 0,1$): Hòa tan 35,0 g dikali hydrophosphat trong 900 ml nước, thêm 20 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M, thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm số 15 (pH $4,5 \pm 0,1$): Hòa tan 13,61 g kali dihydrophosphat trong 1000 ml nước.

Dung dịch đệm số 16 (pH $7,8 \pm 0,1$): Hòa tan 5,59 g dikali hydrophosphat và 0,41 g kali dihydrophosphat trong 1000 ml nước.

Dung dịch đệm số 17 (pH $8,0 \pm 0,1$): Hòa tan 16,73 g dikali hydrophosphat và 0,523 g kali dihydrophosphat trong 1000 ml nước.

Dung dịch đệm số 18 (pH $6,0 \pm 0,1$): Hòa tan 2,0 g dikali hydrophosphat và 8,0 g kali dihydrophosphat trong 1000 ml nước.

Dung dịch đậm số 19 ($\text{pH } 6,0 \pm 0,1$): Hòa tan 20,0 g dikali hydrophosphat và 80,0 g kali dihydrophosphat trong 1000 ml nước.

Chất đối chiếu và đơn vị

Chất đối chiếu được dùng trong thử nghiệm là những chất có hoạt lực được xác định chính xác so với chuẩn quốc tế hoặc chất đối chiếu quốc tế tương ứng.

Hoạt lực của một kháng sinh được thể hiện bằng đơn vị quốc tế. Một đơn vị quốc tế là hoạt lực đặc biệt chứa trong một lượng (tính theo cân nặng) của chuẩn sinh học quốc tế tương ứng hoặc chế phẩm đối chiếu sinh học quốc tế. Từng thời kỳ, Hội đồng về chuẩn sinh học của Tổ chức y tế thế giới sẽ có chỉ dẫn và qui định chính xác cho mỗi chuẩn quốc tế. Trong một vài trường hợp, định nghĩa số đơn vị quốc tế có thể bao gồm một tổng lượng của một vài nguyên liệu vì thực tế khó cân một lượng nhỏ dù chính xác của chất chuẩn sinh học quốc tế hoặc chất đối chiếu sinh học quốc tế. Hoạt lực của một vài chất kháng sinh có thể được biểu thị bằng μg . μg hoạt lực không nhất thiết tương ứng với khối lượng của chất kháng sinh vì nó không thể bao hàm toàn bộ thực thể hoá học tinh khiết riêng của từng kháng sinh đó.

Chủng chỉ thị và dịch cấy truyền

Các chủng chỉ thị dùng phải nhạy cảm, phù hợp với từng kháng sinh, theo qui định ở Bảng 13.9.2. Có thể dùng chủng chỉ thị khác với chủng chỉ thị giới thiệu trong chuyên luận này miễn sao chủng phải nhạy cảm với kháng sinh cần định lượng.

Chế tạo dịch cấy truyền

Chế tạo nhũ dịch vi sinh vật không có bào tử

Bordetella bronchiseptica: Nuôi cấy chủng chỉ thị trong môi trường số 2 ở 35 °C đến 37 °C trong 16 đến 18 giờ. Gặt chủng bằng nước cất vô trùng và pha loãng đến độ đục thích hợp bằng dung dịch natri clorid 0,9 %.

Staphylococcus epidermidis: Chuẩn bị chủng giống như mô tả đối với chủng *Bordetella bronchiseptica*, chỉ khác là thay môi trường số 2 bằng môi trường số 1.

Saccharomyces cerevisiae, *Candida tropicalis*: Nuôi cấy chủng chỉ thị trong môi trường số 6 ở 30 °C đến 37 °C trong 24 giờ. Gặt chủng bằng dung dịch natri clorid 0,9 %. Pha loãng đến độ đục thích hợp bằng dung dịch natri clorid 0,9 %.

Chế tạo nhũ dịch bào tử

Bacillus cereus

Bacillus pumilus

Bacillus subtilis

Cho chủng vi khuẩn mọc qua đêm trên ống thạch nghiêng môi trường số 1 ở 35 °C đến 37 °C. Thu vi khuẩn đã phát triển trên mặt thạch bằng nước muối

sinh lý, rồi chuyển sang một bề mặt thạch rộng hơn (như trong bình Roux) của môi trường số 1, trong môi trường này đã thêm vào dung dịch 0,001 % (kl/tt) mangan sulfat (MnSO_4) để giúp thúc đẩy sự hình thành bào tử. Nhũ dịch vi sinh vật được trải cho phủ kín bề mặt môi trường bằng cách cho vào bề mặt thạch một vài viên bi thủy tinh vô khuẩn. Đem ủ ở 35 °C đến 37 °C trong 7 ngày. Dùng nước cất vô khuẩn rửa vi khuẩn đã mọc (chủ yếu là bào tử) đem hòa loãng tới nồng độ thích hợp, thí dụ khoảng 10^7 đến 10^8 bào tử trong 1 ml, đun cách thủy nhũ dịch bào tử ở 70 °C trong 30 phút. Dùng test phiến kính để kiểm tra khả năng sống của bào tử. Xác định lượng nhũ dịch bào tử để cho vào 100 ml môi trường định lượng có thể tạo được vùng ức chế rõ ràng, sắc nét. Nhũ dịch bào tử có thể giữ lâu ở dưới 4 °C.

Các loại thử nghiệm

Thử nghiệm hai liều và ba liều.

Phương pháp khuếch tán

Pha dung dịch chuẩn và dung dịch thử: Dung dịch chuẩn nồng độ đã biết và dung dịch thử được coi như xấp xỉ nồng độ dung dịch chuẩn. Các chất chuẩn và chất thử ban đầu được pha vào dung môi thích hợp để được những dung dịch gốc. Sau đó, pha loãng dung dịch gốc bằng dung môi hoặc dung dịch đậm vô khuẩn đến nồng độ thích hợp, có pH thích hợp cho từng loại kháng sinh (xem Bảng 13.9. 2). Để xác định hiệu lực của kháng sinh, dùng ba liều khác nhau của chuẩn (S_1 , S_2 , S_3) mang so sánh với ba liều khác nhau của thử (U_1 , U_2 , U_3) có hoạt lực được coi như dung dịch chuẩn. Nồng độ được pha theo cấp số nhân, thí dụ pha một loạt độ pha loãng theo tỷ lệ 2 : 1 hoặc 4 : 1. Nếu quan hệ giữa logarit nồng độ kháng sinh và đường kính vùng ức chế đã chỉ ra gần như thẳng với hệ số đã dùng thì có thể dùng định lượng thường xuyên bằng cách chỉ dùng hai nồng độ chuẩn (S_1 , S_2) và hai nồng độ thử (U_1 , U_2) - Thử nghiệm hai liều. Trong trường hợp có tranh chấp bắt buộc phải sử dụng thử nghiệm ba liều.

Chuẩn bị cấy truyền

Các thử nghiệm có thể tiến hành trên những đĩa Petri hoặc khay bằng phẳng. Đổ vào hộp Petri hoặc khay môi trường thích hợp đã cấy truyền chủng chỉ thị thích hợp cho từng kháng sinh. Lớp môi trường này thường có độ dày 2 mm đến 5 mm. Thạch dinh dưỡng có thể được đổ thành một lớp hoặc hai lớp (gồm lớp nền không có vi khuẩn và lớp gieo cấy), nên chọn nồng độ nhũ dịch cấy vào môi trường sao cho tạo được vùng ức chế sắc nét nhất tương ứng với các liều lượng của kháng sinh. Dùng nhũ dịch chủng chỉ thị đã chế tạo như phần trên, thường cấy vào môi trường với nồng độ 1 ml chủng cho 100 ml môi trường là thích hợp.

Khi nhũ dịch chủng là loại không có bào tử, thường phải cấy vào môi trường thạch đã đun chảy hoàn toàn và để nguội đến 45 °C đến 50 °C. Trường hợp nhũ dịch chủng là bào tử, nhiệt độ cho phép khi cấy tối đa là 65 °C đến 70 °C. Dùng một lượng thích hợp môi trường đã cấy chủng chỉ thị, rót một cách vô khuẩn vào đĩa petri hoặc khay kính (trên đĩa thạch hoặc khay đã có thạch nền hoặc không tùy theo yêu cầu) để được một lớp môi trường có độ dày thích hợp, dàn trải nhanh và đều nắp ngay. Khay kính hoặc hộp petri phải được đặt trên một tấm kính để tạo một mặt phẳng giúp cho môi trường trên khay hoặc hộp có độ dày đồng nhất. Khay kính và hộp thạch được để khô ở nhiệt độ phòng 30 phút trước khi sử dụng (riêng đối với colistin và colistin sulfomethat natri, đĩa Petri hoặc khay kính đã cấy truyền phải để ở tủ lạnh 4 °C trong vài giờ).

Tiến hành thử

Đối với thử nghiệm 3 liều, dùng 6 ống trụ vô khuẩn đặt lên mặt thạch đã cấy truyền trong một hộp petri (với thử nghiệm 2 liều dùng 4 ống trụ cho mỗi hộp). Có thể thay các ống trụ bằng cách dùng dụng cụ đục lỗ đã tiệt khuẩn, đục vào môi trường thạch để tạo ra những lỗ thạch đường kính 6 mm đến 8 mm (hoặc thay bằng những khoan giấy tẩm kháng sinh). Phân phối các dung dịch thử nghiệm của chuẩn và mẫu thử trên mỗi hộp Petri hay khay vuông sao cho phù hợp với kiểu bố trí thí nghiệm đã chọn (xem Phụ lục 13.10). Việc bố trí ống trụ, lỗ khoan, hoặc khoan giấy trên mặt thạch phải sao cho các vùng ức chế không bị trùm lên nhau.

Dùng pipet nhỏ vào ống trụ, hoặc lỗ thạch một lượng bằng nhau các dung dịch kháng sinh. Nếu dùng các khoan giấy phải tiêu chuẩn hoá trước thể tích chính xác chất lỏng cho mỗi khoan giấy. Giữ hộp Petri hoặc khay ở nhiệt độ phòng trong khoảng 1 giờ đến 4 giờ tùy theo đặc tính của mỗi kháng sinh. Đối với colistin và colistin sulfomethat natri nên để 2 giờ đến 4 giờ ở nhiệt độ phòng trước khi ủ. Các hộp Petri hoặc khay sau thời gian để khuếch tán, mang ủ ở nhiệt độ thích hợp cho từng trường hợp riêng (Bảng 13.9.2). Thời gian ủ thường kéo dài 16 giờ đến 18 giờ. Dùng dụng cụ đo có độ chính xác tối thiểu 0,1 mm để đo đường kính vùng ức chế tạo bởi các nồng độ khác nhau của chuẩn và thử.

Đánh giá hoạt lực

Kiểm tra tính có giá trị của định lượng, tính hoạt lực và giới hạn tin cậy của hoạt lực kháng sinh theo Phụ lục 13.10.

Phương pháp đo độ đục

Pha các dung dịch thử nghiệm của chuẩn và mẫu thử
Dung dịch thử nghiệm của chuẩn và mẫu thử được pha trong dung môi thích hợp và được pha loãng

bằng dung dịch đệm phosphat có pH thích hợp cho từng trường hợp riêng theo chỉ dẫn ở Bảng 13.9.3. Để đảm bảo giá trị hiệu lực của phép thử, làm thử nghiệm 3 liều là thích hợp. Pha song song những độ hòa loãng gồm 3 nồng độ chuẩn (S_1 , S_2 , S_3) và 3 nồng độ thử (U_1 , U_2 , U_3) có hoạt tính dự kiến bằng nồng độ của chuẩn.

Chế tạo canh thang để cấy truyền

Chế tạo nhũ dịch cấy truyền như mô tả ở phần chế tạo nhũ dịch vi sinh vật không có bào tử rồi dùng ngay. Chủng chỉ thị và điều kiện thử nghiệm của từng kháng sinh sử dụng trong phương pháp này được ghi trong Bảng 13.9.3.

Tiến hành

Các ống nghiệm được xếp thành từng nhóm, mỗi nhóm 3 ống đến 5 ống, thêm vào mỗi ống 1 ml dung dịch của từng độ pha loãng của dung dịch chuẩn hoặc mẫu thử. Đặt các ống nghiệm vào giá ống nghiệm theo quy tắc ngẫu nhiên theo khối hoặc theo hình vuông latin. Trong mỗi giá có 2 ống dùng kiểm tra không thêm kháng sinh, một ống chứa 1 ml dịch pha loãng, còn ống kia chứa 1 ml dịch pha loãng và 0,5 ml dung dịch formaldehyd 12 % (tt/tt).

Thêm vào mỗi ống 9 ml canh thang đã cấy truyền. Đặt giá đã chuẩn bị xong ngay vào trong tủ ẩm hoặc cách thủy, giữ ở nhiệt độ thích hợp, trong 3 giờ đến 4 giờ. Sau khi ủ, làm ngừng sự phát triển của vi khuẩn bằng cách thêm vào mỗi ống 0,5 ml dung dịch formaldehyd 12 % (tt/tt) trừ ống kiểm tra đã thêm formaldehyd 12 % trước hoặc nhúng giá có các ống nghiệm đã ủ vào nước sôi. Xác định độ truyền qua hoặc độ hấp thụ của mỗi dung dịch bằng máy đo quang ở 530 nm.

Đánh giá hoạt lực : Kiểm tra tính có giá trị của định lượng, tính hoạt lực và giới hạn tin cậy của hoạt lực kháng sinh theo Phụ lục 13.10.

Phương pháp đường chuẩn

Hòa tan một lượng cân chính xác chất đối chiếu hoặc chất chuẩn sinh học của một kháng sinh đã cho trong dung môi thích hợp, có thể phải làm khô trước. Pha loãng với dung môi qui định để được dãy chuẩn có 5 nồng độ. Tỷ lệ tăng giữa các nồng độ nên là 1 : 1,25.

Tiến hành

Khi tiến hành xây dựng đường chuẩn, khảo sát trên ít nhất 12 hộp Petri. Khi xác định hàm lượng của một kháng sinh dùng ít nhất 3 hộp Petri. Đổ vào mỗi hộp Petri 21 ml môi trường đã đun chảy, đợi thạch đông cứng lại tạo thành lớp có độ dày đồng đều và một bề mặt bằng phẳng để làm nền. (Riêng với amphotericin B, nystatin thì không dùng lớp nền). Đối với bleomycin, dùng 10 ml làm lớp nền. Lớp nuôi cấy dùng 4 ml cho mỗi hộp, được đổ và láng đều sau khi lớp nền đã đông cứng, đặt lên mặt thạch trong đĩa 6 ống trụ bằng thép

không rỉ hoặc những ống bằng chất liệu khác như đã quy định ở phần dụng cụ. Các ống trụ tạo thành một hình lục giác đều cách tâm khoảng 2,8 cm. Chia 12 hộp Petri để xây dựng đường chuẩn thành 4 nhóm, mỗi nhóm 3 hộp. Dung dịch có nồng độ giữa được lấy làm dung dịch kiểm tra dùng hiệu chỉnh các giá trị đo được ở mỗi nhóm. Đổ đầy dung dịch kiểm tra vào 3 ống trụ, bố trí xen kẽ trong mỗi hộp Petri. Các ống trụ còn lại được đổ đầy dung dịch có nồng độ của một nhóm. Sau khi ủ các hộp ở nhiệt độ quy định (theo chỉ dẫn Bảng 13.9.2) khoảng 16 giờ đến 18 giờ sẽ đo được 9 giá trị đường kính vòng vô khuẩn của dung dịch kiểm tra trong mỗi nhóm. Tổng số cả 4 nhóm sẽ đo được 36 giá trị đường kính vòng vô khuẩn ở dung dịch kiểm tra. Độ chính xác của mỗi kết quả đo là $\pm 0,1$ mm.

Cách tính

Trị trung bình các đường kính vòng vô khuẩn ở mỗi nồng độ là a_0, b_0, d_0, e_0 ; giá trị trung bình các đường kính vòng vô khuẩn ở nồng độ kiểm tra của mỗi nhóm 3 hộp (9 kết quả) là C_a, C_b, C_d, C_e và giá trị trung bình các đường kính vòng vô khuẩn của nồng độ kiểm tra ở tất cả 12 hộp (gồm 36 kết quả) là C .

Các hiệu số ($C - C_a, C - C_b, C - C_d$ và $C - C_e$) giữa trị trung bình đường kính vòng vô khuẩn của 36 kết quả ở nồng độ giữa của tất cả 4 nhóm (C) trừ trị trung bình đường kính vòng vô khuẩn ở nồng độ giữa của mỗi nhóm (C_a, C_b, C_d và C_e) là số hiệu chỉnh của mỗi nhóm. Trị trung bình đã hiệu chỉnh của mỗi nồng độ a, b, d và e được tính như sau:

$$a = a_0 + C - C_a; b = b_0 + C - C_b; d = d_0 + C - C_d; e = e_0 + C - C_e.$$

Thí dụ: Để xây dựng đường chuẩn của một chất chuẩn sinh học S, đã thu được các giá trị thực nghiệm (mm) sau: $a_0 = 17,9; b_0 = 20,1; d_0 = 24,2; e_0 = 25,9; C_a = 22,1; C_b = 22,2; C_d = 22,5; C_e = 22,4$ và $C = 22,3$. Từ đó, tính được các trị trung bình đã hiệu chỉnh là

$$a = 18,1; b = 20,2; d = 24,0 \text{ và } e = 25,8.$$

Trên giấy bán logarit hai chu kỳ vẽ đường chuẩn qua các điểm giá trị trung bình đã hiệu chỉnh và cả trị trung bình của 36 kết quả (C). Trên trục tung (chia theo thang logarit) lấy nồng độ kháng sinh bằng μg hoặc đơn vị hoạt lực trong ml. Trên trục hoành (chia theo thang số học) lấy giá trị đường kính vòng ức chế. Như vậy đường chuẩn được vẽ qua điểm tương ứng với giá trị đường kính vòng ức chế cao nhất và thấp nhất tính được bằng phương trình sau:

$$L = \frac{3a + 2b + C - e}{5}$$

$$H = \frac{3e + 2d + C - a}{5}$$

Trong đó:

L là đường kính vòng vô khuẩn tính cho nồng độ thấp nhất của đường chuẩn;

H là đường kính vòng vô khuẩn tính cho nồng độ cao nhất của đường chuẩn;

C là đường kính trung bình của 36 kết quả của nồng độ kiểm tra;

a, b, d , và e là những giá trị đường kính trung bình đã hiệu chỉnh cho từng dung dịch còn lại xếp theo thứ tự từ nồng độ thấp nhất tới nồng độ cao nhất.

Ba hộp Petri dùng cho mẫu thử nghiệm cũng được tiến hành đồng thời khi xây dựng đường chuẩn. Trong ba hộp này nhỏ xen kẽ dung dịch chuẩn có nồng độ giữa và dung dịch thử đã pha loãng với dung dịch đệm thích hợp để có nồng độ giả định tương đương nồng độ giữa của chuẩn.

Sau khi đo đường kính các vòng vô khuẩn của mẫu thử, tính trung bình hiệu chỉnh theo giá trị đường kính ở nồng độ giữa sẽ được đường kính của chế phẩm thử. Trên trục hoành ứng với giá trị đường kính vừa tìm được của mẫu thử, kẻ đường vuông góc với trục hoành cắt đường đường chuẩn vừa vẽ được tại một điểm và từ điểm này trên đường chuẩn hạ vuông góc với trục tung sẽ tìm được giá trị nồng độ ứng với đường kính của mẫu thử.

Hoạt lực của chế phẩm được tính ra phần trăm so với chuẩn theo công thức sau:

$$R \% = \frac{\text{Hoạt lực tìm thấy của chế phẩm} \times 100}{\text{Hoạt lực tìm thấy ở nồng độ giữa}}$$

Bảng 13.9.2. Điều kiện định lượng kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán

Tên kháng sinh	Chất chuẩn	Dung môi ban đầu	Dung dịch đệm	Chủng vi sinh vật	Môi trường và pH ($\pm 0,1$)	Nhiệt độ ủ
Amphotericin B	Amphotericin B	Dimethyl sulfoxid	Số 14	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763 IP 1432-83	Số 6 (pH 6,1)	35 – 37 °C
Bacitracin kẽm	Bacitracin kẽm	Acid hydrochloric 0,01 N	Số 7	<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 7743 CIP 53.160 ATCC 10240	Số 1 (pH 7,0)	35 – 39 °C
Bleomycin sulfat	Bleomycin sulfat	Nước	Số 6	<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 607	Số 7 (pH 7,0)	35 – 37 °C
Colistimethat natri	Colistimethat natri	Nước	Số 2	<i>Bordetella bronchiseptica</i> NCTC 8344 CIP 53.157 ATCC 4617 <i>Escherichia coli</i> NCIB 8879 CIP 54.127 ATCC 10536	Số 2 (pH 7,3)	35 – 39 °C
Dihydrostreptomycin sulfat	Dihydrostreptomycin sulfat	Nước	Số 12	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 8236 CIP 1.83 <i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	Số 1 (pH 7,9)	30 – 37 °C
Doxycyclin hydroclorid	Doxycyclin hydroclorid	Acid hydrochloric 0,01 N	Số 15	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	Số 9 (pH 6,0 – 7,0)	35 – 37 °C
Erythromycin estolat	Erythromycin	Methanol	Số 12	<i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241 CIP 76.18 <i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	Số 1 (pH 7,9)	30 – 37 °C

Erythromycin stearat	Erythromycin	Methanol	Số 12	<i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241 CIP 76.18 <i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	Số 1 (pH 7,9)	30 – 37 °C
Framycetin sulfat	Framycetin sulfat	Nước	Số 12	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633 <i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241 CIP 76.18	Số 5 (pH 7,9)	30 – 37 °C
Gentamycin sulfat	Gentamycin sulfat	Nước	Số 12	<i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241 CIP 76.18 <i>Staphylococcus epidermidis</i> NCIB 8853 CIP 68.21 ATCC 12228	Số 1 (pH 7,9)	35 – 39 °C
Josamycin	Josamycin	Methanol	Số 1	<i>Bacillus subtilis</i> CIP 52.62 ATCC 6633 NCTC 10400	Số 1 (pH 6,6)	35 – 37 °C
Josamycin propionat	Josamycin propionat	Methanol	Số 1	<i>Bacillus subtilis</i> CIP 52.62 ATCC 6633 NCTC 10400	Số 1 (pH 6,6)	35 – 37 °C
Kanamycin monosulfat	Kanamycin monosulfat	Nước	Số 12	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633 <i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 1 (pH 7,9)	30 – 37 °C
Kanamycin acid sulfat	Kanamycin acid sulfat					35 – 39 °C

Kitasamycin	Kitasamycin	Methanol	Số 17	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Số 11 (pH 7,9)	30 – 37 °C
Lymecyclin	Lymecyclin		Số 1	<i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241 CIP 76.18	Số 1 (pH 6,6)	37 – 39 °C
Neomycin sulfat	Neomycin sulfat	Nước	Số 12	<i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241 CIP 76.18 <i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	Số 5 (pH 7,9)	30 – 37 °C 30 – 37 °C
Netilmicin sulfat	Netilmicin sulfat	Nước	Số 12	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 P CIP 53.156	Số 1 (pH 7,9)	32 – 35 °C
Nystatin	Nystatin	Dimethyl formamid	Số 19	<i>Candida tropicalis</i> CIP 1433-83 NCYC 1393 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> NCYC 87 CIP 1432-83 ATCC 9763	Số 6 (pH 6,0)	30 – 37 °C 30 – 32 °C
Oxytetracyclin dihydrat	Oxytetracyclin dihydrat	Acid hydrochloric 0,01 N	Số 1	<i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241	Số 1 (pH 6,6)	30 – 37 °C
Polymycin B sulfat	Polymycin B	Dung dịch đậm số 18	Số 18	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Số 12 (pH 6,5 – 6,6)	32 – 37 °C
Rifamycin natri	Rifamycin natri	Methanol	Số 7	<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 8340 CIP 53.45 ATCC 9341	Số 1 (pH 6,6)	35 – 39 °C
Acetyl spiramycin	Acetyl spiramycin	Hòa tan acetyl spiramycin trong ethanol với tỷ lệ 5 mg acetyl spiramycin trong 2 ml, sau đó thêm nước cất vừa đủ	Số 16	<i>Bacillus subtilis</i>	Số 10 (pH 8,1)	32 – 37 °C

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM IV

Spiramycin	Spiramycin	Methanol	Số 12	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	Số 1 (pH 7,9)	30 – 32 °C
Streptomycin sulfat	Streptomycin sulfat	Nước	Số 12	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 8236 CIP 1.83 <i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	Số 1 (pH 7,9)	30 – 37 °C 30 – 37 °C
Tetracyclin hydroclorid	Tetracyclin hydroclorid	Acid hydrocloric 0,01 N	Số 15	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	Số 13 (pH 6,0 – 7,0)	35 – 37 °C
Tobramycin	Tobramycin	Nước	Số 12	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Số 1 (pH 7,9)	30 – 37 °C
Vancomycin hydroclorid	Vancomycin hydroclorid	Nước	Số 12	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 8236 CIP 52.62 ATCC 6633	Số 1 (pH 8,0)	37 – 39 °C
Vancomycin	Vancomycin	Nước	Số 15	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Số 14 (pH 5,9)	30 – 32 °C

Bảng 13.9.3. Điều kiện định lượng kháng sinh bằng phương pháp đo độ đục

Tên kháng sinh	Chất chuẩn	Dung môi ban đầu	Dung dịch đệm	Chủng vi sinh vật	Môi trường và pH ($\pm 0,1$)	Nhiệt độ ủ
Apramycin	Apramycin		Số 17	<i>Salmonella choleraesuis</i>	Số 8 (pH 8,0)	37 °C
Colistimethat natri	Colistimethat natri	Nước	Số 7	<i>Escherichia coli</i> NCIB 8666 CIP 2.83 ATCC 9637	Số 3 (pH 7,0)	35 – 37 °C
Dihydrostreptomycin sulfat	Dihydrostreptomycin sulfat	Nước	Số 12	<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 7427 CIP 53.153 ATCC 10031	Số 3 (pH 7,0)	35 – 37 °C
Erythromycin estolat	Erythromycin	Methanol	Số 12	<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 7427 CIP 53.153 ATCC 10031	Số 4 (pH 7,0)	35 – 37 °C
Erythromycin ethylsuccinat	Erythromycin			<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	35 – 37 °C
Erythromycin stearat	Erythromycin	Methanol	Số 12	<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 7427 CIP 53.153 ATCC 10031	Số 4 (pH 7,0)	35 – 37 °C
Framycetin sulfat	Framycetin sulfat	Nước	Số 12	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	35 – 37 °C
Gentamycin sulfat	Gentamycin sulfat	Nước	Số 7	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	35 – 37 °C

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM IV

Gramicidin	Gramicidin	Methanol	Số 7	<i>Enterococcus hirae</i> CIP 58.55 ATCC 10541 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	35 – 37 °C
Josamycin	Josamycin	Methanol	Số 1	<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 53.156 ATCC 6538 P NCTC 7447	Số 3 (pH 8,0)	35 – 37 °C
Josamycin propionat	Josamycin propionat	Methanol	Số 1	<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 53.156 ATCC 6538 P NCTC 7447	Số 3 (pH 8,0)	35 – 37 °C
Kanamycin monosulfat Kanamycin acid sulfat	Kanamycin monosulfat	Nước	Số 12	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	35 – 37 °C
Neomycin sulfat	Neomycin sulfat	Nước	Số 12	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	35 – 37 °C
Rifamycin natri	Rifamycin natri	Methanol	Số 7	<i>Escherichia coli</i> NCIB 8879 CIP 54.127 ATCC 10536	Số 3 (pH 7,0)	35 – 37 °C
Spiramycin	Spiramycin	Methanol	Số 7	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	35 – 37 °C
Streptomycin sulfat	Streptomycin sulfat	Nước	Số 12	<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 7427 CIP 53.153 ATCC 10031	Số 3 (pH 7,0)	35 – 37 °C
Tyrothricin.	Gramicidin	Ethanol 96%	Ethanol 96%	<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541	Số 3 (pH 7,0)	37 °C
Vancomycin hydroclorid	Vancomycin hydroclorid	Nước	Số 12	<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	37 – 39 °C

13.10 PHÂN TÍCH THỐNG KÊ CÁC KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM SINH HỌC

1. Mở đầu

Chuyên luận này hướng dẫn cách thiết kế thí nghiệm sinh học và phương pháp phân tích thống kê các kết quả thử nghiệm sinh học có trong Dược điển Việt Nam.

Có thể dùng kiểu thiết kế thí nghiệm và cách tính toán kết quả khác với phương pháp mô tả trong chuyên luận này, miễn là các phương pháp đó có độ tin cậy không kém phương pháp được mô tả ở đây.

Phương pháp sinh học được dùng để thử nghiệm các chất hay chế phẩm mà hoạt lực của chúng không thể xác định một cách chính xác bằng các phương pháp phân tích hóa - lý. Nguyên tắc của phương pháp là so sánh chế phẩm cần định lượng với một chế phẩm chuẩn để xác định lượng chế phẩm cần định lượng cho cùng tác động sinh học với lượng đã cho, tính bằng đơn vị, của chế phẩm chuẩn. Để đảm bảo độ chính xác của kết quả định lượng, các phép thử được tiến hành với chế phẩm chuẩn và chế phẩm cần định lượng phải thực hiện đồng thời và trong cùng điều kiện thí nghiệm.

Bất kỳ một định giá nào của thử nghiệm sinh học luôn luôn mắc phải sai số ngẫu nhiên do tính biến thiên vốn có của đáp ứng sinh học, do đó nếu có thể, khi tính kết quả của mỗi thử nghiệm phải tính sai số, kể cả khi dùng phương pháp chính thức. Vì vậy, trong chuyên luận này có hướng dẫn các phương pháp thiết kế thử nghiệm và cách tính sai số. Các phương pháp tính toán trình bày ở đây chỉ tính đến sai số ngẫu nhiên gây ra bởi các sinh vật thử và giả định rằng các sai số hệ thống, ví dụ sai số do cân, pha loãng,... là rất nhỏ và không ảnh hưởng đáng kể đến kết quả định lượng (do đó phải có biện pháp thích hợp để giảm sai số hệ thống đến mức có thể chấp nhận được). Trong mọi trường hợp, trước khi áp dụng một phương pháp thống kê bất kỳ, phải tiến hành thử sơ bộ một số lần thích hợp để bảo đảm chắc chắn tính khả dụng của phương pháp đó.

Độ chính xác của kết quả thử nghiệm sinh học được xác định bởi các giới hạn tin cậy, hoặc là khoảng tin cậy của hoạt lực. Giới hạn tin cậy ở xác suất 95 % thường được chọn trong các thử nghiệm sinh học, do đó cũng được chọn trong chuyên luận này. Khoảng tin cậy tính bằng các phương pháp toán thống kê giới thiệu ở đây có khả năng chứa hoạt lực thật của chế phẩm cần định lượng với xác suất 95 %. Một số chuyên luận Dược điển qui định giới hạn tin cậy phải không được vượt quá một ngưỡng nhất định, ví dụ phải nằm trong khoảng từ 95 % đến 105 % so với hoạt lực tính được, trong một số trường hợp cần phải lặp lại thử nghiệm hai hay nhiều lần để đạt được giới hạn tin cậy cho phép.

Chú giải các ký hiệu dùng trong chuyên luận này được trình bày trong bảng ở phần cuối của chuyên luận.

2. Ngẫu nhiên hóa

Việc phân bổ những xử lý (liều, nồng độ,...) khác nhau của chế phẩm chuẩn và chế phẩm thử cho các đơn vị thí nghiệm (ví dụ động vật thí nghiệm, ống nghiệm,...) phải được thực hiện một cách hoàn toàn ngẫu nhiên. Bất kỳ một sự lựa chọn nào khác về những điều kiện thí nghiệm (ví dụ chọn lựa cân nặng, tuổi của động vật thí nghiệm, điều kiện môi trường thí nghiệm,...), cũng không được phép cố ý trong thiết kế thí nghiệm mà đều phải lựa chọn ngẫu nhiên. Chọn vị trí của chuồng nuôi động vật thí nghiệm trong phòng thí nghiệm, trình tự dùng các xử lý,... cũng phải được thực hiện một cách ngẫu nhiên.

Ngẫu nhiên hóa có thể thực hiện bằng cách ném xúc xắc, xào các lá bài có đánh số, dùng bảng số ngẫu nhiên hay các phần mềm vi tính thích hợp.

3. Các thử nghiệm dựa trên đáp ứng định lượng

3.1 Mô hình thống kê

3.1.1 Nguyên tắc chung

Hai mô hình thống kê thường dùng trong các thử nghiệm sinh học là mô hình đường thẳng song song và mô hình tỷ lệ độ dốc. Trong chuyên luận này chỉ giới thiệu mô hình đường thẳng song song. Để tìm hiểu thêm về mô hình còn lại, xin tham khảo Dược điển châu Âu IV hay các tài liệu thống kê khác.

Chỉ có thể áp dụng mô hình thống kê đường thẳng song song nếu thử nghiệm hội đủ các điều kiện sau:

- 1) Các xử lý khác nhau của chế phẩm chuẩn và chế phẩm cần định lượng đã được phân bổ ngẫu nhiên cho từng đơn vị thí nghiệm;
- 2) Các đáp ứng của mỗi xử lý tuân theo phân phối chuẩn;
- 3) Độ lệch chuẩn của các đáp ứng trong mỗi nhóm xử lý của cả chế phẩm chuẩn và chế phẩm cần định lượng không khác nhau có ý nghĩa.

Khi thử nghiệm được triển khai sử dụng, nhà phân tích phải xác định xem các số liệu thu thập được từ nhiều thử nghiệm có thỏa mãn các điều kiện lý thuyết sau không:

Điều kiện 1 có thể thỏa mãn nếu thực hiện đúng theo các hướng dẫn trình bày ở mục 2 (Ngẫu nhiên hóa).

Điều kiện 2 là một giả định mà trong thực tế hầu như đều được thỏa mãn. Những sai lệch nhỏ so với giả định này nói chung không gây ảnh hưởng lớn đến kết quả, nếu mỗi xử lý được tiến hành nhiều thí nghiệm lặp lại.

Điều kiện 3 có thể được kiểm tra bằng phép thử tính đồng nhất của các phương sai, ví dụ bằng phép kiểm Bartlett hoặc phép kiểm Hartley (xem các ví dụ trong mục 3.2.8).

Nếu điều kiện 2 và/hoặc điều kiện 3 không thỏa mãn, chuyển đổi đáp ứng y bằng $\ln(y)$, $\sqrt{y}$ hay y^2 có thể cho kết quả tốt.

Phép chuyển đổi y thành $\ln(y)$ rất hữu ích trong trường hợp tính đồng nhất của các phương sai không thỏa mãn. Phép chuyển đổi này cũng giúp cải thiện tính chuẩn nếu phân phối bị lệch về bên phải.

Sự chuyển đổi y thành $\sqrt{y}$ thường được dùng khi các quan sát tuân theo phân phối Poisson, ví dụ khi các quan sát thu được bằng phương pháp đếm.

3.1.2 Các thử nghiệm thường nhật

Trong các thử nghiệm thường nhật, rất khó kiểm tra một cách hệ thống các điều kiện lý thuyết mô tả ở mục 3.1.1, bởi vì trong thực tế số quan sát trong một thử nghiệm thường nhỏ do đó ảnh hưởng đến độ nhạy của các phép kiểm thống kê. Tuy nhiên, trong những thử nghiệm cân xứng (là những thử nghiệm có số xử lý của chế phẩm chuẩn bằng với số xử lý của chế phẩm cần định lượng, ví dụ: thử nghiệm $2 + 2$, $3 + 3$, ...) những sai lệch nhỏ so với tính chuẩn hay so với tính đồng nhất của phương sai không ảnh hưởng lớn đến kết quả thử nghiệm. Do đó, chỉ cần kiểm tra lại các điều kiện lý thuyết nói trên khi một loạt các thử nghiệm liên tiếp không thỏa mãn phép kiểm tính có giá trị (xem mục 3.2.4).

Ngoài 3 điều kiện lý thuyết đã nói trên, mô hình đường thẳng song song còn yêu cầu mỗi thử nghiệm phải thỏa mãn thêm 2 điều kiện sau:

4) Đường biểu diễn mối quan hệ giữa logarit liều và đáp ứng phải tuyến tính trong khoảng liều đã dùng.

5) Đường thẳng $\ln(\text{liều})$ - đáp ứng của chế phẩm cần định lượng phải song song với đường $\ln(\text{liều})$ - đáp ứng của chế phẩm chuẩn.

Chỉ có thể kiểm tra điều kiện 4 và 5 nếu thử nghiệm được tiến hành với ít nhất 3 nồng độ pha loãng của mỗi chế phẩm (định lượng 3 liều hay lớn hơn). Tuy nhiên, nếu tính tuyến tính của đường logarit liều - đáp ứng, trong một khoảng liều nhất định, đã được chứng minh bởi một số lượng đủ lớn các thử nghiệm có 3 liều trở lên, có thể tiến hành thử nghiệm chỉ với 2 liều của mỗi chế phẩm (thử nghiệm 2 liều) trong các thử nghiệm hàng ngày, dùng trong khoảng liều đã cho.

Trước khi tính hoạt lực và các giới hạn tin cậy, cần phải tiến hành phân tích phương sai để kiểm tra xem thử nghiệm có đáp ứng các điều kiện 4 và 5 hay không.

Các thử nghiệm dựa trên mô hình thống kê đường thẳng song song được trình bày trong mục 3.2.

Nếu có bất cứ điều kiện nào trong 5 điều kiện nói trên không thỏa mãn, các phương pháp tính toán giới thiệu ở đây sẽ không có giá trị. Khi đó, phải tiến hành rà soát lại các kỹ thuật thử nghiệm để tìm ra nguyên nhân.

Nếu các phép kiểm thống kê cho thấy bất kỳ một điều kiện nào trong 5 điều kiện nói trên không thỏa mãn, không được chuyển ngay sang một phép chuyển đổi khác, trừ khi có đủ bằng chứng rằng nguyên nhân gây ra hiện tượng đó không phải do ngẫu nhiên mà là kết quả của một sự thay đổi có hệ thống của các điều kiện thí nghiệm. Trước khi áp dụng một phép chuyển đổi mới vào các thử nghiệm thường nhật, phải lặp lại phép kiểm thống kê đã trình bày ở mục 3.1.1.

Để thu được một kết quả thử nghiệm đáng tin cậy, có thể phải tiến hành một vài thử nghiệm độc lập, sau đó phối hợp các kết quả thử nghiệm lại với nhau (xem mục 4 - Phối hợp các kết quả thử nghiệm).

Nhằm mục đích kiểm soát chất lượng của các thử nghiệm hàng ngày, nên ghi các trị định giá về độ dốc hồi qui và sai số dư dưới dạng biểu đồ kiểm tra.

Nếu sai số dư lớn một cách bất thường, nguyên nhân đầu tiên phải nghĩ đến là có sai sót kỹ thuật nào đó. Nếu các khảo sát khẳng định có sai sót trong quá trình thử nghiệm, phải lặp lại thử nghiệm. Sai số dư cũng có thể rất lớn nếu trong dãy số liệu đó có một giá trị bất thường. Chỉ được loại bỏ giá trị nghi ngờ là bất thường nếu giá trị đó khác có ý nghĩa thống kê với các giá trị còn lại.

Một sai số dư nhỏ bất thường có thể xảy ra một lần hoặc một lúc nào đó làm cho các tỷ số F vượt quá giá trị tới hạn. Trong những trường hợp như vậy, có thể thay sai số dư định giá được của từng thử nghiệm riêng bằng một sai số dư trung bình dựa vào các số liệu trước đó trong biểu đồ kiểm tra.

3.1.3 Cách tính toán và những hạn chế

Dưới đây là 3 hạn chế áp đặt cho mỗi thử nghiệm nhằm làm đơn giản hóa việc tính toán và làm tăng độ chính xác của thử nghiệm:

- Số nồng độ pha loãng của mỗi chế phẩm trong một thử nghiệm phải bằng nhau;
- Tỷ lệ giữa các liều kế tiếp nhau phải là một hằng số đối với tất cả các xử lý trong một thử nghiệm, ví dụ: $S_2/S_1 = S_3/S_2 = \dots = Z_3/Z_2$;
- Số các đơn vị thí nghiệm của mỗi xử lý phải bằng nhau.

Các công thức tính toán áp dụng cho một thiết kế thử nghiệm tuân thủ đúng 3 hạn chế nêu trên được giới thiệu ở mục 3.2. Đối với các thiết kế thử nghiệm không tuân theo các hạn chế đã nêu, các công thức tính toán sẽ rất phức tạp và không được giới thiệu trong chuyên luận này.

Trong mục 3.2.8 có trình bày một số ví dụ để minh họa về phương pháp tính thống kê. Có thể dùng các số liệu trong các ví dụ đó để kiểm tra các phần mềm dùng trong phân tích thống kê kết quả thử nghiệm sinh học.

3.2 Mô hình đường thẳng song song

3.2.1 Giới thiệu

Mô hình đường thẳng song song dựa trên quan hệ tuyến tính giữa đáp ứng Y và logarit X của liều D .

$$Y = a + bX$$

Trong đó:

Y là đáp ứng mong đợi;

X là $\ln(\text{liều}) = \ln(D)$;

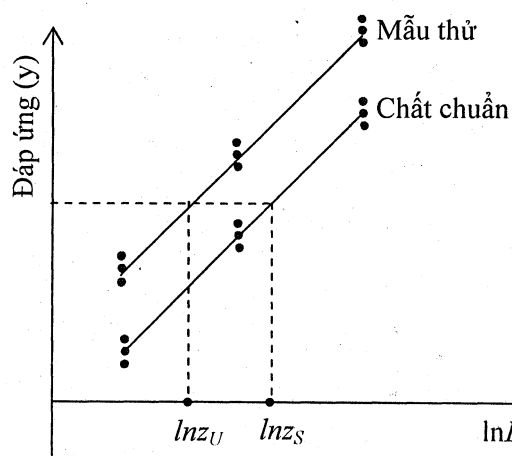
a và b là các hằng số.

Mô hình đường thẳng song song có thể được minh họa bởi đồ thị trong Hình 13.10.1. Trên đồ thị, trục hoành biểu diễn các logarit liều với nồng độ thấp ở bên trái và nồng độ cao ở bên phải, trục tung biểu diễn các đáp ứng đo được. Các đáp ứng riêng của mỗi xử lý được biểu thị bằng các chấm đen. Hai đường trên đồ thị biểu diễn mối quan hệ giữa logarit liều và đáp ứng tính được của chế phẩm chuẩn và chế phẩm cần định lượng.

Từ trục tung kẻ một đường thẳng bất kỳ song song với trục hoành, cắt hai đường $\ln(\text{liều})$ – đáp ứng tại hai điểm có hoành độ là $\ln Z_S$ và $\ln Z_U$, đây là hai logarit nồng độ hoặc logarit liều của chế phẩm chuẩn và chế phẩm thử cho cùng đáp ứng sinh học.

Để cho thử nghiệm thỏa mãn, hoạt lực giả định của chế phẩm thử phải gần với hoạt lực thực. Dựa vào hoạt lực giả định này và hoạt lực ấn định của chế phẩm chuẩn pha các độ pha loãng có hoạt lực tương đương sao cho hoạt lực Z_U của chế phẩm thử U bằng hoạt lực Z_S của chế phẩm chuẩn S .

Khoảng cách nằm ngang giữa 2 đường thẳng: $\ln(Z_S) - \ln(Z_U)$ là hoạt lực thực của chế phẩm thử so với hoạt lực giả định của nó. Nếu đường thẳng của chế phẩm thử ở bên phải của chế phẩm chuẩn, hoạt lực giả định đã được định giá quá cao và việc tính toán sẽ cho hoạt lực định giá được thấp hơn hoạt lực giả định; cũng tương tự nếu đường thẳng của chế phẩm thử ở bên trái của chế phẩm chuẩn, hoạt lực giả định đã được định giá quá thấp và việc tính toán sẽ cho hoạt lực định giá được cao hơn hoạt lực giả định. Trong một thử nghiệm, nếu đoạn thẳng $\ln(Z_S) - \ln(Z_U)$ càng nhỏ, hoạt lực giả định của chế phẩm cần thử nghiệm càng gần với hoạt lực thật của nó và kết quả thử nghiệm sẽ càng chính xác.



Hình 13.10.1 - Mô hình đường thẳng song song của một thử nghiệm 3 + 3.

Chú ý: Logarit tự nhiên $\ln$ (hay $\log_e$) được sử dụng xuyên suốt trong chuyên luận này, do đó, antilogarit tương đương với e^x . Tuy vậy, nếu muốn, hoàn toàn có thể dùng logarit cơ số 10 (hay $\log_{10}$) thay cho $\ln$, khi đó, antilogarit tương ứng với 10^x .

3.2.2 Thiết kế thử nghiệm

Các thử nghiệm sinh học có thể được thiết kế theo một số cách khác nhau như trình bày dưới đây.

3.2.2.1 Thiết kế ngẫu nhiên hoàn toàn

Nếu toàn bộ các đơn vị thí nghiệm (động vật, ống nghiệm,...) tương đối đồng nhất, việc phân chia các đơn vị thí nghiệm cho các xử lý khác nhau phải được tiến hành một cách ngẫu nhiên, ví dụ dùng bảng hoán vị ngẫu nhiên. Nếu chia các đơn vị thí nghiệm thành các phân nhóm, ví dụ theo vị trí vật lý hay theo ngày thí nghiệm, nên chia theo cách tính đồng nhất hơn là chỉ xét đến số lượng các đơn vị thí nghiệm, ta có thể tăng độ chính xác của thử nghiệm bằng cách áp dụng một hoặc nhiều hạn chế trong cách thiết kế thí nghiệm. Sự phân chia các đơn vị thí nghiệm theo các hạn chế đó cho phép loại bỏ những nguồn gây sai số không liên quan.

3.2.2.2 Thiết kế ngẫu nhiên theo khối

Trong kiểu thiết kế thí nghiệm này, có thể tách các nguồn biến thiên ra, ví dụ biến thiên do sự nhạy cảm giữa các lứa động vật thí nghiệm hoặc biến thiên giữa các hộp Petri trong định lượng vi sinh vật bằng phương pháp khuếch tán, khỏi sai số toàn phần. Thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên theo khối đòi hỏi mỗi khối (lứa động vật hoặc hộp Petri) phải có số xử lý bằng nhau và chỉ thích hợp nếu khối đủ lớn để có thể chứa tất cả các xử lý của thử nghiệm.

Bảng 13.10.6 trình bày công thức tính toán áp dụng cho các thử nghiệm thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên theo khối, trong đó mỗi xử lý chỉ xuất hiện một lần duy nhất trong mỗi khối (thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên theo khối không lặp). Ví dụ minh họa cho kiểu thiết kế thí nghiệm này được trình bày trong ví dụ 3.2.8.2.

3.2.2.3 Thiết kế hình vuông Latin

Kiểu thiết kế thí nghiệm này thích hợp với những thử nghiệm mà đáp ứng chịu ảnh hưởng của 2 nguồn biến thiên khác nhau, trong đó mỗi nguồn biến thiên có k mức hay k vị trí khác nhau. Ví dụ, trong định lượng kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán, các xử lý có thể được sắp xếp thành $k \times k$ dãy trên một khay lớn, mỗi xử lý chỉ xuất hiện một lần duy nhất trong mỗi hàng và mỗi cột. Chỉ có thể áp dụng kiểu thiết kế thí nghiệm hình vuông Latin khi số hàng, số cột và số xử lý của mỗi chế phẩm đều phải bằng nhau.

Các đáp ứng được ghi vào một bảng hình vuông gọi là hình vuông Latin. Biến thiên do sự khác nhau về đáp ứng giữa k hàng và giữa k cột sẽ được tách khỏi biến thiên toàn phần, do đó làm giảm sai số của định lượng.

Bảng 13.10.6 trình bày công thức tính toán áp dụng cho các thử nghiệm hình vuông Latin, trong đó mỗi xử lý chỉ xuất hiện một lần duy nhất trong mỗi hàng và mỗi cột. Ví dụ minh họa cho kiểu thiết kế thí nghiệm này được trình bày trong ví dụ 3.2.8.3.

3.2.2.4 Thiết kế chéo

Kiểu thiết kế thí nghiệm này được áp dụng trong trường hợp thí nghiệm có thể chia thành các khối, nhưng mỗi khối chỉ có thể nhận hai xử lý, ví dụ một khối là một đơn vị thí nghiệm được thử hai lần vào hai thời điểm khác nhau. Mục đích của kiểu thiết kế chéo là làm tăng độ chính xác của thử nghiệm bằng cách loại trừ ảnh hưởng do sự khác nhau giữa các đơn vị thí nghiệm. Nếu thử nghiệm tiến hành với 2 liều của chế phẩm chuẩn và 2 liều của chế phẩm cần định lượng, ta có kiểu thí nghiệm chéo đôi.

Bảng 13.10.1- Cách sắp xếp các liều trong thiết kế thí nghiệm chéo

Nhóm các đơn vị thí nghiệm	Giai đoạn I	Giai đoạn II
1	s_1	u_2
2	s_2	u_1
3	u_1	s_2
4	u_2	s_1

Trong thiết kế chéo đôi, thử nghiệm được chia thành hai giai đoạn, mỗi giai đoạn tiến hành vào những thời điểm khác nhau. Các đơn vị thí nghiệm được chia thành bốn nhóm, mỗi nhóm nhận một trong bốn xử lý ở giai đoạn đầu của thí nghiệm. Đơn vị nhận một chế phẩm trong giai đoạn đầu sẽ nhận chế phẩm khác trong giai đoạn sau, và các đơn vị nhận liều thấp trong giai đoạn đầu sẽ nhận liều cao trong giai đoạn sau. Cách sắp xếp các liều cho ở Bảng 13.10.1. Ví dụ minh họa cho kiểu thiết kế thí nghiệm này được trình bày trong ví dụ 3.2.8.4.

3.2.3 Phân tích phương sai

Mục này trình bày các công thức cần thiết để phân tích phương sai. Người đọc sẽ dễ hiểu hơn khi tham khảo thêm các ví dụ ở mục 3.2.8 và Bảng ghi chú các ký hiệu ở mục 6.

Các công thức trình bày ở đây có thể áp dụng cho các định lượng đối xứng trong đó một hay nhiều chế phẩm cần thử ($\underline{U}, \dots, \underline{Z}$) được so sánh với cùng một chế phẩm chuẩn $\underline{S}$, với điều kiện thử nghiệm phải đáp ứng được các điều kiện sau: 1) tỷ lệ giữa các liều kế tiếp nhau của tất cả các chế phẩm phải là một hằng số, 2) số xử lý của mỗi chế phẩm và 3) số đơn vị thí nghiệm (số thử nghiệm lặp lại) trong mỗi xử lý phải bằng nhau (xem mục 3.1.3).

Ngoại trừ một vài khác biệt nhỏ trong cách tính sai số dư, phương pháp phân tích các số liệu của mỗi thử nghiệm sinh học về cơ bản là giống nhau đối với các kiểu thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên hoàn toàn, ngẫu nhiên theo khối và hình vuông Latin. Thiết kế thí nghiệm chéo có công thức tính hoàn toàn khác và do đó được trình bày trực tiếp trong ví dụ 3.2.8.4.

Để chuẩn bị số liệu cho phân tích phương sai, đầu tiên phải tính tổng đáp ứng của mỗi liều, tổng đáp ứng và tương phản tuyến tính (*linear contrast*) của mỗi chế phẩm; đối với các định lượng có nhiều hơn hai liều của mỗi chế phẩm, cần tính thêm tương phản bậc hai (*quadratic contrast*). Các Bảng 13.10.2, 13.10.3 và 13.10.4 trình bày các công thức tính đó.

Bảng 13.10.2- Công thức tính toán cho các thử nghiệm hai liều đa chế phẩm

	Chế phẩm chuẩn $\underline{S}$	Chế phẩm thử thứ nhất $\underline{U}$	Chế phẩm thử thứ (h - 1) $\underline{Z}$
Tổng đáp ứng của liều thấp	S_1	U_1	Z_1
Tổng đáp ứng của liều cao	S_2	U_2	Z_2
Tổng đáp ứng của chế phẩm	$S_1 + S_2 = S$	$U_1 + U_2 = U$	$Z_1 + Z_2 = Z$
Tương phản tuyến tính	$S_2 - S_1 = L_S$	$U_2 - U_1 = L_U$	$Z_2 - Z_1 = L_Z$

Bảng 13.10.3- Công thức tính toán cho các thử nghiệm ba liều đa chế phẩm

	Chế phẩm chuẩn $\underline{S}$	Chế phẩm thử thứ nhất $\underline{U}$	Chế phẩm thử thứ (h - 1) $\underline{Z}$
Tổng đáp ứng của liều thấp	S_1	U_1	Z_1
Tổng đáp ứng của liều trung gian	S_2	U_2	Z_2
Tổng đáp ứng của liều cao	S_3	U_3	Z_3
Tổng đáp ứng của chế phẩm	$S_1 + S_2 + S_3 = S$	$U_1 + U_2 + U_3 = U$	$Z_1 + Z_2 + Z_3 = Z$
Tương phản tuyến tính	$S_3 - S_1 = L_S$	$U_3 - U_1 = L_U$	$Z_3 - Z_1 = L_Z$
Tương phản bậc hai	$S_1 - 2S_2 + S_3 = Q_S$	$U_1 - 2U_2 + U_3 = Q_U$	$Z_1 - 2Z_2 + Z_3 = Q_Z$

Bảng 13.10.4 - Công thức tính toán cho các thử nghiệm bốn liều đa chế phẩm

	Chế phẩm chuẩn $\underline{S}$	Chế phẩm thử thứ nhất $\underline{U}$	Chế phẩm thử thứ (h - 1) $\underline{Z}$
Tổng đáp ứng của liều thấp nhất	S_1	U_1	Z_1
Tổng đáp ứng của liều thứ hai	S_2	U_2	Z_2
Tổng đáp ứng của liều thứ ba	S_3	U_3	Z_3
Tổng đáp ứng của liều cao nhất	S_4	U_4	Z_4
Tổng đáp ứng của chế phẩm	$S_1 + S_2 + S_3 + S_4 = S$	$U_1 + U_2 + U_3 + U_4 = U$	$Z_1 + Z_2 + Z_3 + Z_4 = Z$
Tương phản tuyến tính	$3S_4 + S_3 - S_2 - 3S_1 = L_S$	$3U_4 + U_3 - U_2 - 3U_1 = L_U$	$3Z_4 + Z_3 - Z_2 - 3Z_1 = L_Z$
Tương phản bậc hai	$S_1 - S_2 - S_3 + S_4 = Q_S$	$U_1 - U_2 - U_3 + U_4 = Q_U$	$Z_1 - Z_2 - Z_3 + Z_4 = Q_Z$
Tương phản bậc ba	$3S_2 - S_1 + S_4 - 3S_3 = J_S$	$3U_2 - U_1 + U_4 - 3U_3 = J_U$	$3Z_2 - Z_1 + Z_4 - 3Z_3 = J_Z$

Trong bước kế tiếp, biến thiên toàn phần của thử nghiệm, còn gọi là sai số chung, được phân tích thành các biến thiên riêng phần như trình bày ở Bảng 13.10.5, các tổng các bình phương được tính từ các giá trị thu được ở các Bảng 13.10.2, 13.10.3 và 13.10.4.

Bảng 13.10.5- Phép thử tính có giá trị của thử nghiệm

Nguồn biến thiên	Bậc tự do (f)	Tổng các bình phương		
		2 liều/chế phẩm	3 liều/chế phẩm	4 liều/chế phẩm
Chế phẩm	h - 1	$\frac{S^2 + U^2 + \dots + Z^2}{2n} - K$	$\frac{S^2 + U^2 + \dots + Z^2}{3n} - K$	$\frac{S^2 + U^2 + \dots + Z^2}{4n} - K$
Hồi qui tuyến tính	1	$\frac{(L_S + L_U + \dots + L_Z)^2}{2nh} = E$	$\frac{(L_S + L_U + \dots + L_Z)^2}{2nh} = E$	$\frac{(L_S + L_U + \dots + L_Z)^2}{20nh} = E$
Tính không song song	h - 1	$\frac{L_S^2 + L_U^2 + \dots + L_Z^2}{2n} - E$	$\frac{L_S^2 + L_U^2 + \dots + L_Z^2}{2n} - E$	$\frac{L_S^2 + L_U^2 + \dots + L_Z^2}{20n} - E$
Tính không tuyến tính (Độ cong)	h (3 liều) 2h (4 liều)	-	$\frac{Q_S^2 + Q_U^2 + \dots + Q_Z^2}{6n}$	$\frac{Q_S^2 + Q_U^2 + \dots + Q_Z^2}{4n} + \frac{J_S^2 + J_U^2 + \dots + J_Z^2}{20n}$

Tính sai số dư (*residual error*) bằng cách lấy sai số toàn phần của thử nghiệm trừ đi các sai số riêng của các nguồn biến thiên khác nhau (Bảng 13.10.6), nguồn biến thiên có thể nhận dạng được tùy theo kiểu thiết kế thí nghiệm trong Bảng 13.10.6, $\sum y^2$ là tổng bình phương của tất cả các đáp ứng đo được trong thử nghiệm, K là đại lượng để hiệu chỉnh:

$$K = \frac{(\sum y)^2}{N}$$

Kết thúc phân tích phương sai bằng cách chia các tổng các bình phương tính được từ Bảng 13.10.5 cho bậc tự do tương ứng để được các bình phương trung bình.

Bình phương trung bình của sai số dư cũng được tính theo cách tương tự, dùng số liệu tương ứng ở Bảng 13.10.6.

Bình phương trung bình của mỗi biến số cần kiểm tra sẽ được biểu diễn dưới dạng một tỷ số với sai số dư s^2 , gọi là tỷ số F . Đánh giá mức ý nghĩa của các tỷ số F bằng cách so sánh F tính được (viết tắt là $F_{cal.}$) với giá trị F tới hạn (viết tắt là $F_{crit.}$) tra từ Bảng 13.10.7 hay bằng cách dùng các phần mềm vi tính thích hợp. Nếu dùng bảng tra cứu, đọc $F_{crit.}$ từ Bảng 13.10.7 tại giao điểm giữa cột tương ứng với bậc tự do của bình phương trung bình của biến số cần kiểm tra (f_1) và hàng tương ứng với bậc tự do của s^2 (f_2). Biến số cần kiểm tra được coi là có ý nghĩa nếu $F_{cal.} > F_{crit.}$ ở xác suất $P = 0,05$ hay rất có ý nghĩa nếu $F_{cal.} > F_{crit.}$ ở xác suất $P = 0,01$.

Bảng 13.10.6- Định giá của sai số dư

Nguồn biến thiên	Bậc tự do (f)	Tổng các bình phương		
		Ngẫu nhiên hoàn toàn	Ngẫu nhiên theo khối	Hình vuông Latin
Giữa các xử lý	k - 1	$\frac{S_1^2 + S_2^2 + \dots + Z_d^2}{n} - K$	$\frac{S_1^2 + S_2^2 + \dots + Z_d^2}{n} - K$	$\frac{S_1^2 + S_2^2 + \dots + Z_d^2}{n} - K$
Giữa các khối (hàng)	n - 1		$\frac{R_1^2 + R_2^2 + \dots + R_n^2}{k} - K$	$\frac{R_1^2 + R_2^2 + \dots + R_n^2}{k} - K$
Giữa các khối (cột)	n - 1	-	-	$\frac{C_1^2 + C_2^2 + \dots + C_n^2}{k} - K$
Sai số dư	Hiệu số	*	*	*
Sai số toàn phần	N - 1	$\sum y^2 - K$	$\sum y^2 - K$	$\sum y^2 - K$

* Lấy sai số toàn phần trừ đi các tổng các bình phương tương ứng của mỗi phương pháp thiết kế thí nghiệm.

3.2.4. Phép thử tính có giá trị của thử nghiệm

Kết quả thử nghiệm được coi là có giá trị thống kê (statistically valid) nếu:

1) Đại lượng hồi qui tuyến tính rất có ý nghĩa, $F_{cal.} > F_{crit.}$ ở xác suất $P = 0,01$ ($P < 0,01$), chứng tỏ độ dốc của đường ln(liều) – đáp ứng rất khác 0.

2) Đại lượng không tuyến tính (non-linearity) phải không có ý nghĩa, $F_{cal.} < F_{crit.}$ ở xác suất 0,05 ($P > 0,05$), chứng tỏ thoả mãn điều kiện 4, tức là các đường ln(liều) – đáp ứng của chế phẩm chuẩn $\underline{S}$ và các chế phẩm thử ($\underline{U}, \dots, \underline{Z}$) thẳng.

3) Đại lượng không song song (non-parallelism) phải không có ý nghĩa, $F_{cal.} < F_{crit.}$ ở xác suất 0,05 ($P > 0,05$), chứng tỏ thử nghiệm đáp ứng điều kiện 5, hay nói cách khác các đường ln(liều) – đáp ứng của các chế phẩm thử ($\underline{U}, \dots, \underline{Z}$) song song với đường ln(liều) – đáp ứng của chế phẩm chuẩn $\underline{S}$.

Nếu đại lượng không song song có ý nghĩa trong một thử nghiệm có h chế phẩm, kể cả chế phẩm chuẩn, một trong số các chế phẩm cần thử có thể có độ dốc của đường ln(liều) – đáp ứng khác với các chế phẩm còn lại. Tính t' (phép kiểm Dunnett) của mỗi chế phẩm cần định lượng ($\underline{U}, \dots, \underline{Z}$) theo công thức:

$$t' = \frac{L_S - L_U}{2\sqrt{ns^2}} \quad (3.2.4-1)$$

Đối với các thử nghiệm có bốn liều đơn chế phẩm, tính t' theo công thức:

$$t' = \frac{L_S - L_U}{2\sqrt{10ns^2}}$$

So sánh mỗi t' tính được với giá trị tới hạn đọc từ Bảng 13.10.8, với $f_1 = h - 1$, f_2 là bậc tự do của s^2 . Nếu t' có ý nghĩa thống kê với một chế phẩm bất kỳ, loại bỏ tất cả các số liệu liên quan đến chế phẩm đó và lặp lại từ đầu phép kiểm tính có giá trị với các chế phẩm còn lại.

Biến thiên do chế phẩm không được dùng trong phép thử tính có giá trị của thử nghiệm, tuy nhiên, trong những thử nghiệm mà sai số dư lớn một cách bất thường và tỷ số F của nguồn biến thiên do chế phẩm cao rất có ý nghĩa, hoạt lực giả định của chế phẩm cần định lượng rất khác với hoạt lực thật của nó, cần phải lặp lại thử nghiệm dùng hoạt lực tính được làm hoạt lực giả định.

Bảng 13.10.7- Giá trị tới hạn của tỷ số F

		f_1									
		1	2	3	4	5	6	7	8	20	∞
f_2	12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,54	2,30
		9,33	6,93	5,95	5,41	5,06	4,82	4,64	4,50	3,86	3,36
	15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,33	2,07
		8,68	6,36	5,42	4,89	4,56	4,32	4,14	4,00	3,37	2,87
	20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,12	1,84
		8,10	5,85	4,94	4,43	4,10	3,87	3,70	3,56	2,94	2,42
	25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,01	1,71
		7,77	5,57	4,68	4,18	3,85	3,63	3,46	3,32	2,70	2,17
	30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	1,93	1,62
		7,56	5,39	4,51	4,02	3,70	3,47	3,30	3,17	2,55	2,01
	40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	1,84	1,51
		7,31	5,18	4,31	3,83	3,51	3,29	3,12	2,99	2,37	1,80
	60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	1,75	1,39
		7,08	4,98	4,13	3,65	3,34	3,12	2,95	2,82	2,20	1,60
	∞	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,57	1,00

* Nếu F tính được $> F$ tới hạn, biến số cần kiểm tra được coi là có ý nghĩa (dòng trên, $p = 0,05$), hay rất có ý nghĩa (dòng dưới, $p = 0,01$). f_1 là bậc tự do của tử số, f_2 là bậc tự do của mẫu số.

Bảng 13.10.8- Giá trị tới hạn của t'

$f_1 = (h - 1) = \text{số chế phẩm cần định lượng}$									
f_2	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5	2,57	3,03	3,29	3,48	3,62	3,73	3,82	3,90	3,97
6	2,45	2,86	3,10	3,26	3,39	3,49	3,57	3,64	3,71
7	2,36	2,75	2,97	3,12	3,24	3,33	3,41	3,47	3,53
8	2,31	2,67	2,88	3,02	3,13	3,22	3,29	3,35	3,41
9	2,26	2,61	2,81	2,95	3,05	3,14	3,20	3,26	3,32
10	2,23	2,57	2,76	2,89	2,99	3,07	3,14	3,19	3,24
11	2,20	2,53	2,72	2,84	2,94	3,02	3,08	3,14	3,19
12	2,18	2,50	2,68	2,81	2,90	2,98	3,04	3,09	3,14
13	2,16	2,48	2,65	2,78	2,87	2,94	3,00	3,06	3,10
14	2,14	2,46	2,63	2,75	2,84	2,91	2,97	3,02	3,07
15	2,13	2,44	2,61	2,73	2,82	2,89	2,95	3,00	3,04
16	2,12	2,42	2,59	2,71	2,80	2,87	2,92	2,97	3,02
17	2,11	2,41	2,58	2,69	2,78	2,85	2,90	2,95	3,00
18	2,10	2,40	2,56	2,68	2,76	2,83	2,89	2,94	2,98
19	2,09	2,39	2,55	2,66	2,75	2,81	2,87	2,92	2,96
20	2,09	2,38	2,54	2,65	2,73	2,80	2,86	2,90	2,95
24	2,06	2,35	2,51	2,61	2,70	2,76	2,81	2,86	2,90
30	2,04	2,32	2,47	2,58	2,66	2,72	2,77	2,82	2,86
40	2,02	2,29	2,44	2,54	2,62	2,68	2,73	2,77	2,81
60	2,00	2,27	2,41	2,51	2,58	2,64	2,69	2,73	2,77
120	1,98	2,24	2,38	2,47	2,55	2,60	2,65	2,69	2,73
∞	1,96	2,21	2,35	2,44	2,51	2,57	2,61	2,65	2,69

Nếu thử nghiệm thỏa mãn phép thử tính có giá trị, hay nói cách khác, thử nghiệm có giá trị thống kê, hoạt lực và các giới hạn tin cậy có thể được định giá bằng các phương pháp mô tả trong mục kế tiếp.

3.2.5 Định giá hoạt lực và các giới hạn tin cậy

Để định giá hoạt lực và các giới hạn tin cậy, trước hết phải tính đáp ứng trung bình của mỗi chế phẩm ($\bar{y}_S, \bar{y}_U, \dots, \bar{y}_Z$):

$$\bar{y}_S = \frac{S}{N_S} \quad (3.2.5.-1)$$

Tiến hành tương tự như vậy với các chế phẩm khác.

Gọi I là khoảng cách giữa $\ln$ các liều kế tiếp nhau của một chế phẩm bất kỳ (I là hằng số trong một thử nghiệm), ví dụ $I = \ln(S_2) - \ln(S_1)$, độ dốc chung (b) của một thử nghiệm bao gồm h chế phẩm, mỗi chế phẩm có d liều khác nhau được tính theo công thức:

$$b = \frac{L_S + L_U + \dots + L_Z}{(d-1)Inh} \quad (3.2.5.-2)$$

Đối với các thử nghiệm bốn liều đơn chế phẩm, tính b theo công thức:

$$b = \frac{L_S + L_U + \dots + L_Z}{10Inh}$$

$\ln$ (tỷ lệ hoạt lực) của chế phẩm cần định lượng $\underline{U}$ được tính theo công thức:

$$M'_U = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} \quad (3.2.5.-3)$$

Gọi A_U là hoạt lực giả định của chế phẩm $\underline{U}$, logarit hoạt lực của $\underline{U}$ (M_U) sẽ bằng:

$$M_U = M'_U + \ln(A_U) \quad (3.2.5.-4)$$

Hoạt lực tính được là ước lượng của hoạt lực thật của mỗi chế phẩm cần định lượng. Các giới hạn tin cậy của hoạt lực tính được là khoảng chứa hoạt lực thật của chế phẩm cần định lượng với xác suất 95 %. Logarit của các giới hạn tin cậy được tính theo công thức sau:

$$\ln(A_U) + CM'_U \pm \frac{st\sqrt{C}}{b} \sqrt{\frac{1}{N_S} + \frac{1}{N_U} + \frac{(\bar{y}_S - \bar{y}_U)^2}{E - s^2t^2}} \quad (3.2.5.-5)$$

với:
$$C = \frac{E}{E - s^2t^2} \quad (3.2.5.-6)$$

E là giá trị tính được từ Bảng 13.10.5, tính s^2 bằng cách chia tổng các bình phương của biến số sai số dư trong Bảng 13.10.6 cho bậc tự do tương ứng của nó, t là giá trị đọc được từ Bảng 5.1 với xác suất $P = 0,95$ và f là bậc tự do của s^2 .

Trong những thử nghiệm đối xứng, công thức tính các giới hạn tin cậy có thể đơn giản hóa thành:

$$\ln(A_U) + CM'_U \pm \sqrt{(C-1)(CM_U'^2 + 2H)} \quad (3.2.5.-7)$$

với:
$$H = \frac{E}{b^2dn}$$

Trong đó:

C là tiêu chí đánh giá ý nghĩa của đường hồi qui. Trong một thử nghiệm có độ dốc đạt yêu cầu, giá trị của C rất gần với 1. Nếu $C < 0$ hồi qui tuyến tính không có ý nghĩa.

Tính định giá hoạt lực của chế phẩm U (R_U) và các giới hạn tin cậy của nó bằng cách lấy antilogarit các giá trị tính được từ các công thức 3.2.5.-4 và 3.2.5.-7.

$$R_U = \text{anti} \ln(M_U) \quad (3.2.5.-8)$$

$$FL_U = \text{anti} \ln \left(\ln(A_U) + CM'_U + \sqrt{(C-1)(CM_U'^2 + 2H)} \right) \quad (3.2.5.-9)$$

$$FL_L = \text{anti} \ln \left(\ln(A_U) + CM'_U - \sqrt{(C-1)(CM_U'^2 + 2H)} \right) \quad (3.2.5.-10)$$

FL_U là giới hạn tin cậy trên và FL_L là giới hạn tin cậy dưới của hoạt lực tính được R_U .

Nếu nồng độ dung dịch gốc của chế phẩm chuẩn và các chế phẩm thử không hoàn toàn bằng nhau, phải hiệu chỉnh hoạt lực tính được và các giới hạn tin cậy với một hệ số, gọi là hệ số hiệu chỉnh (xem ví dụ 3.2.8.3). Hệ số hiệu chỉnh là tỷ số giữa nồng độ dung dịch gốc của chế phẩm chuẩn và nồng độ dung dịch gốc của mỗi chế phẩm cần định lượng.

3.2.6 Các giá trị bị mất

Trong một thử nghiệm đối xứng, một sự cố ngẫu nhiên có thể dẫn đến việc mất một hay nhiều giá trị đo, ví dụ động vật thí nghiệm chết, vòng vô khuẩn bị méo không đo được trong một thử nghiệm kháng sinh ... Nếu sự cố xảy ra không liên quan đến thành phần của chế phẩm đã sử dụng, vẫn có thể tính được kết quả định lượng một cách chính xác, tuy nhiên khi đó các công thức tính toán sẽ trở nên rất phức tạp. Để có thể tiếp tục dùng các công thức tính toán đơn giản của thiết kế thí nghiệm đối xứng, có thể áp dụng một trong hai cách sau:

1) Nếu số đáp ứng của mỗi xử lý đủ lớn, giảm số đáp ứng trong các xử lý có số đáp ứng lớn hơn cho đến khi số đáp ứng của tất cả các xử lý bằng nhau. Nếu động vật thí nghiệm đã được phân bố một cách ngẫu nhiên cho mỗi xử lý, bỏ một hay vài đáp ứng, được chọn ngẫu nhiên, từ các xử lý có số đáp ứng lớn sẽ thu được thử nghiệm đối xứng. Đối với các thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên theo khối, cách đơn giản nhất là bỏ tất cả các đáp ứng của khối có giá trị bị mất. Ví dụ, chỉ giữ lại kết quả đo của các hộp Petri có đủ 6 vòng vô khuẩn trong thử nghiệm kháng sinh 3 + 3 bằng phương pháp khuếch tán, dùng hộp Petri.

2) Thay các giá trị bị mất bằng các giá trị tính được từ những giá trị còn lại. Công thức tính các giá trị mất được trình bày ở bên dưới. Số bậc tự do của sai số toàn phần và sai số dư sẽ phải giảm đi một đơn vị cho mỗi giá trị bị mất. Cần nhớ rằng đây chỉ là phương pháp gần đúng, phương pháp chính xác luôn luôn cho kết quả đáng tin cậy hơn.

Nếu có nhiều quan sát bị mất, thay tất cả các giá trị bị mất, trừ một quan sát, bằng các giá trị ước lượng thô và dùng công thức thích hợp để tính giá trị của quan sát đó dựa trên các giá trị còn lại, kể cả các giá trị ước lượng thô. Thay quan sát bị mất bằng giá trị vừa tính được. Tiếp tục tính theo cách trên với giá trị ước đoán thô thứ nhất... Sau khi đã thay thế lần lượt tất cả các quan sát bị mất, lặp lại từ đầu chu trình tính toán, mỗi lần tính dùng một giá trị ước đoán hoặc giá trị tính được cho đến khi hai chu trình kế tiếp nhau cho cùng kết quả.

Kết quả thử nghiệm chỉ được chấp nhận nếu số các giá trị thay thế tương đối nhỏ (nhỏ hơn 5 %) so với tổng số đáp ứng của toàn bộ thử nghiệm. Cần đặc biệt thận trọng trong trường hợp các giá trị bị mất có khuynh hướng tập trung trong một xử lý hay một khối.

Thiết kế ngẫu nhiên hoàn toàn

Trong kiểu thiết kế ngẫu nhiên hoàn toàn, thay giá trị bị mất bằng trung bình số học của các đáp ứng khác trong cùng xử lý.

Thiết kế ngẫu nhiên theo khối

Giá trị bị mất (y') được tính bằng công thức:

$$y' = \frac{nB' + kT' - G'}{(n-1)(k-1)} \quad (3.2.6.-1)$$

Trong đó:

B' là tổng đáp ứng của khối chứa giá trị bị mất, T' là tổng đáp ứng của xử lý chứa giá trị bị mất, G' là tổng tất cả các đáp ứng còn lại trong thử nghiệm, n và k theo thứ tự là số khối và số xử lý.

Để minh họa, giả sử giá trị của u_1 trong khối thứ nhất (trong trường hợp này là hàng hay hộp Petri) ở ví dụ 3.2.8.2, Bảng 13.10.14 bị mất ($u_1 = 174$). Với:

$$B' = 1.050$$

$$T' = 869$$

$$G' = 7.189$$

$$k = 6$$

$$n = 6$$

$y' = 173$. Dùng giá trị tính được 173 thay cho đáp ứng của u_1 trong hộp số 1 của Bảng 13.10.14 và tiếp tục tính toán như trình bày trong ví dụ 3.2.8.2 nhưng với bậc tự do của sai số toàn phần là 34, và bậc tự do của sai số dư là 24.

Thiết kế hình vuông Latin

Giá trị bị mất (y') được tính bằng công thức:

$$y' = \frac{k(B' + C' + T') - 2G'}{(k-1)(k-2)} \quad (3.2.6.-2)$$

Trong đó:

B' và C' là tổng các đáp ứng trong hàng và cột chứa giá trị bị mất. G' là tổng các đáp ứng còn lại trong thử nghiệm (Bảng 13.10.18), còn T' là tổng các đáp ứng của xử lý chứa giá trị bị mất (Bảng 13.10.19). Trong thiết kế hình vuông Latin $k = n$. Giả sử giá trị 161 của đáp ứng ở cột thứ 1 và hàng thứ 1 trong Bảng 13.10.18 và Bảng 13.10.19 (ví dụ 3.2.8.3) bị mất, nó sẽ được thay thế bởi giá trị 150 tính được bằng công thức 3.2.6.-2 với:

$$B' = 890$$

$$C' = 876$$

$$T' = 791$$

$$G' = 6.175$$

$$k = 6$$

Các bậc tự do sẽ bị giảm xuống còn 19 đối với sai số dư và 34 đối với sai số toàn phần.

Thiết kế chéo

Nếu có giá trị bị mất trong kiểu thiết kế thí nghiệm chéo phải tham khảo các tài liệu thống kê vì công thức tính sẽ rất khác nhau tùy theo cách phối hợp các xử lý.

3.2.7 Các thử nghiệm đối xứng một phần

Nếu hoạt lực giả định của chế phẩm cần định lượng, là hoạt lực được dùng để tính lượng chế phẩm thử cần lấy khi pha các dung dịch của chế phẩm thử, khác xa với hoạt lực thật, nồng độ cao nhất hoặc nồng độ thấp nhất của

chế phẩm thử có thể nằm lọt ra ngoài vùng tuyến tính của đường ln(liều) - đáp ứng, do đó thử nghiệm sẽ không có giá trị thống kê do không thỏa mãn tính tuyến tính và/hoặc tính song song.

Có thể tính hoạt lực từ các số liệu còn lại, sau khi loại bỏ các đáp ứng của nồng độ cao nhất hoặc nồng độ thấp nhất của chế phẩm thử và dùng hoạt lực tính được làm hoạt lực giả định cho những lần thử nghiệm lặp lại.

Logarit tỷ lệ hoạt lực được tính bằng công thức:

$$M_U' = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} \pm \frac{I}{2} \quad (3.2.7.-1)$$

Công thức trên rất giống với phương trình 3.2.5.-3, tuy nhiên, ln (tỷ lệ hoạt lực) sẽ bị trừ đi một đại lượng bằng $I/2$ nếu bỏ nồng độ thấp nhất, và cộng thêm $I/2$ nếu bỏ nồng độ cao nhất.

Tính các đáp ứng trung bình $\bar{y}_S$ và $\bar{y}_U$ theo cách tương tự như thử nghiệm cân xứng hoàn toàn (phương trình 3.2.5.-1), nhưng công thức tính độ dốc (b) có một số biến đổi tùy theo thiết kế thí nghiệm.

Trong thử nghiệm hai liều đa chế phẩm, tính độ dốc bằng công thức:

$$b = \frac{L_S + \dots + L_Z}{\ln(h-1)} \quad (3.2.7.-2)$$

Chú ý: Trong công thức trên, tử số không bao gồm L_U vì chế phẩm U chỉ còn một nồng độ. Đối với thử nghiệm đơn chế phẩm:

$$b = \frac{L_S}{\ln} \quad (3.2.7.-3)$$

Trong thử nghiệm ba liều đa chế phẩm, tính các tương phản tuyến tính ($L_S, \dots, L_Z$) theo công thức cho ở Bảng 13.10.3, riêng L_U tính bằng công thức ở Bảng 13.10.2. Công thức tính độ dốc sẽ là:

$$b = \frac{2(L_S + \dots + L_Z) + L_U}{\ln(4h-3)} \quad (3.2.7.-4)$$

Đối với thử nghiệm đơn chế phẩm, công thức trên trở thành:

$$b = \frac{2L_S + L_U}{5\ln} \quad (3.2.7.-5)$$

3.2.8 Các ví dụ

Mục này trình bày một số ví dụ minh họa cách sử dụng các công thức tính toán liên quan đến mô hình đường thẳng song song.

Các ví dụ giới thiệu ở đây chỉ nhằm mục đích minh họa cho các phương pháp tính toán thống kê và không phải là phương pháp bắt buộc phải áp dụng nếu chuyên luận riêng cho phép dùng phương pháp khác.

Để có thể sử dụng các ví dụ trong chuyên luận này như nguồn số liệu tham khảo phục vụ cho việc kiểm tra các chương trình vi tính, thương mại hay tự biên soạn, dùng trong phân tích thống kê kết quả định lượng sinh học, các kết quả tính toán có thể chứa nhiều số thập phân hơn mức cần thiết. Có thể dùng phương pháp tính toán khác với phương pháp giới thiệu trong chuyên luận này, nhưng kết quả cuối cùng phải giống như các kết quả trong các ví dụ trình bày ở đây.

Ví dụ 3.2.8.1 Thử nghiệm hai liều đa chế phẩm với thiết kế ngẫu nhiên hoàn toàn

Thử nghiệm định lượng corticotrophin bằng phương pháp tiêm dưới da chuột cống trắng

Liều dùng của chế phẩm chuẩn là 0,25 và 1,0 đơn vị cho mỗi 100 g thể trọng chuột thí nghiệm. Hai chế phẩm thử đều có hoạt lực giả định là 1 đơn vị/mg và có liều dùng giống như chế phẩm chuẩn. Các đáp ứng riêng và đáp ứng trung bình của mỗi nhóm xử lý cho ở Bảng 13.10.9.

Bảng 13.10.9 - Đáp ứng metameter y - khối lượng acid ascorbic (mg) trên 100 g tuyến thượng thận

	Chế phẩm chuẩn <u>S</u>		Chế phẩm thử <u>U</u>		Chế phẩm thử <u>Z</u>		Tổng số
	s_1	s_2	u_1	u_2	z_1	z_2	
	300	289	310	230	250	236	
	310	221	290	210	268	213	
	330	267	360	280	273	283	
	290	236	341	261	240	269	
	364	250	321	241	307	251	
	328	231	370	290	270	294	
	390	229	303	223	317	223	
	360	269	334	254	312	250	
	342	233	295	216	320	216	
	306	259	315	235	265	265	
Trung bình	332,0	248,4	323,9	244,0	282,2	250,0	
Phương sai (var_i)	1.026,7	483,8	725,0	718,7	854,6	784,7	$\sum \text{var}_i = 4.593,4$
$\ln(\text{var}_i)$	6,9341	6,1817	6,5862	6,5774	6,7507	6,6653	$\sum \ln(\text{var}_i) = 39,6953$

Bảng 13.10.10- Các tổng đáp ứng và tương phản tuyến tính (xem công thức tính ở Bảng 13.10.2)

	Chế phẩm chuẩn <u>S</u>	Chế phẩm thử <u>U</u>	Chế phẩm thử <u>Z</u>	Tổng số
Liều thấp	$S_1 = 3.320$	$U_1 = 3.239$	$Z_1 = 2.822$	
Liều cao	$S_2 = 2.484$	$U_2 = 2.440$	$Z_2 = 2.500$	
Tổng đáp ứng của chế phẩm	$S = 5.804$	$U = 5.679$	$Z = 5.322$	$\sum y = 16.805$
Tương phản tuyến tính	$L_S = -836$	$L_U = -799$	$L_Z = -322$	$\sum L = -1.957$

$$K = \frac{(\sum y)^2}{N} = \frac{16.805^2}{60} = 4.706.800,42$$

$$\sum y^2 = 4.826.447$$

Tính các tổng các bình phương theo công thức trong các Bảng 13.10.5 và 13.10.6 dùng các số liệu tính được ở Bảng 13.10.10:

$$\text{Chế phẩm} = \frac{S^2 + U^2 + Z^2}{2n} - K = \frac{5.804^2 + 5.679^2 + 5.322^2}{20} - 4.706.800,42 = 6.256,63$$

$$\text{Hồi qui tuyến tính} = \frac{(L_S + L_U + \dots + L_Z)^2}{2nh} = \frac{(-836 - 799 - 322)^2}{60} = 63.830,817 = E$$

$$\text{Không song song} = \frac{L_S^2 + L_U^2 + \dots + L_Z^2}{2n} - E = \frac{(-836)^2 + (-799)^2 + (-322)^2}{20} - 63.830,817 = 8.218,233$$

$$\text{Giữa các xử lý} = \frac{S_1^2 + S_2^2 + \dots + Z_d^2}{n} - K = \frac{3.320^2 + 2.484^2 + \dots + 2.500^2}{10} - K = 78.305,68$$

$$\text{Toàn phần} = \sum y^2 - K = 4.826.447 - 4.706.800,42 = 119.646,58$$

$$\text{Sai số dư} = \text{Toàn phần} - \text{Giữa các xử lý} = 119.646,58 - 78.305,68 = 41.340,90$$

Bảng 13.10.11- Phân tích phương sai

Nguồn biến thiên	Bậc tự do	Tổng các bình phương	Bình phương trung bình	Tỷ số F	Xác suất
Chế phẩm	2	6.256,6	3128,3		
Hồi qui tuyến tính	1	63.830,8	63.830,8	83,4	< 0,01
Không song song	2	8.218,2	4109,1	5,4	< 0,05
Giữa các xử lý	5	78.305,7			
Sai số dư	54	41.340,9	765,572		
Sai số toàn phần	59	119.646,6			

Phép thử tính có giá trị của thử nghiệm

Kết quả phân tích phương sai cho thấy, tỷ số F của biến số hồi qui $F_{cal.} = 83,4$ rất lớn so với F tới hạn ở xác suất $P = 0,01, f_1 = 1$ và $f_2 = 54$: $F_{(P=0,01;f_1=1;f_2=54)} = 7,13^{(1)}$, do đó biến số hồi qui rất có ý nghĩa.

Biến số không song song cũng có ý nghĩa, $F_{cal.} = 5,4 > F_{(P=0,05;f_1=2;f_2=54)} = 3,17$. Khảo sát Bảng 13.10.10 cho thấy chế phẩm Z có tương phản tuyến tính L_Z rất khác với L_S và L_U . Do đó, có khả năng độ dốc của đường ln(liều) - đáp ứng của chế phẩm Z không phù hợp với các chế phẩm còn lại và là nguyên nhân làm cho tính có giá trị của thử nghiệm không thỏa mãn. Kiểm tra giả thuyết trên bằng phép kiểm Dunnett (t' được tính theo công thức ở mục 3.2.4) :

Đối với chế phẩm U :

$$t' = \frac{L_S - L_U}{2\sqrt{ns^2}} = \frac{-836 - (-799)}{2\sqrt{10 \times 765,572}} = -0,21$$

Đối với chế phẩm Z :

$$t' = \frac{L_S - L_Z}{2\sqrt{ns^2}} = \frac{-836 - (-322)}{2\sqrt{10 \times 765,572}} = -2,94$$

Đối với chế phẩm Z , $|t'_{cal.}| = 2,94 > t'_{crit.} = 2,27$ đọc từ Bảng 13.10.8 với $P = 0,05, f_1 = 2$ và $f_2 = 54$, do đó đường ln(liều) - đáp ứng của nó không song song với đường ln(liều) - đáp ứng của chế phẩm chuẩn. Loại các số liệu liên quan đến chế phẩm Z và lặp lại phân tích chỉ với các số liệu của chế phẩm U và chế phẩm chuẩn, với $\sum y = 11.483$ và $\sum L = -1.635$ (Bảng 13.10.10).

$$K = \frac{(\sum y)^2}{N} = \frac{11.483^2}{40} = 3.296.482,225$$

$$\sum y^2 = 3.390.325$$

Bảng 13.10.12- Phân tích phương sai không có chế phẩm Z

Nguồn biến thiên	Bậc tự do	Tổng các bình phương	Bình phương trung bình	Tỷ số F	Xác suất
Chế phẩm	1	390,6	390,6		
Hồi qui tuyến tính	1	66.830,6	66.830,6	90,5	< 0,01
Không song song	1	34,2	34,2	0,05	> 0,05
Giữa các xử lý	3	67.255,5			
Sai số dư	36	26.587,3	738,54		
Sai số toàn phần	39	93.842,8			

⁽¹⁾ Trong bảng 13.10.7 không có $f_2 = 54$. Tuy nhiên $F_{(0,01;f_1=1;f_2=40)} = 7,31$ nên ở đây $F_{crit.} = F_{(P=0,01;f_1=1;f_2=54)}$ phải < 7,31, còn $F_{cal.} = 83,4$, do đó $F_{cal.} > F_{crit.}$ nên biến số hồi qui rất có ý nghĩa. Nếu có bảng tra cứu chi tiết hơn, có $f_2 = 54$ thì $F_{crit.} = 7,13$. Trị số này có thể tìm được bằng phép ngoại suy của bảng 13.10.7 hoặc cũng có thể tính được bằng hàm FINV(p, f_1, f_2) của chương trình Bảng tính Excel.

Sau khi loại chế phẩm Z , kết quả phân tích phương sai cho thấy thử nghiệm thỏa mãn các yêu cầu về cả hồi qui và tính không song song.

Định giá hoạt lực và các giới hạn tin cậy

$$\bar{y}_S = \frac{S}{N_S} = \frac{5.804}{20} = 290,2$$

$$\bar{y}_U = \frac{U}{N_U} = \frac{5.679}{20} = 283,95$$

Tỷ lệ giữa các liều kế tiếp nhau bằng $1,0/0,25 = 4$, do đó $I = \ln(4) = 1,3863$, $t = 2,03$ với $P = 0,95$ và $f = 36$ (Bảng 5.1).

$$b = \frac{L_S + L_U}{Inh} = \frac{-1.635}{20I} = -58,970$$

$$M'_U = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} = \frac{283,95 - 290,2}{-58,970} = 0,1060$$

Hoạt lực giả định A_U của chế phẩm U là 1 đơn vị/mg, do đó:

$$M_U = M'_U + \ln(A_U) = 0,1060 + 0 = 0,1060$$

Hoạt lực của chế phẩm U bằng antiln (M_U) = antiln (0,1060) = 1,11 đơn vị/mg.

$$C = \frac{E}{E - s^2 t^2} = \frac{66.830,6}{66.830,6 - 738,5 \times 2,03^2} = 1,0477$$

$$H = \frac{E}{b^2 dn} = \frac{66.830,6}{(-58,970)^2 \times 2 \times 10} = 0,969091$$

$$(C - 1)(CM'_U{}^2 + 2H) = (1,0477 - 1)(1,0477 \times 0,1060^2 + 2 \times 0,969091) = 0,09223$$

Logarit các giới hạn tin cậy bằng:

$$\ln(A_U) + CM'_U \pm \sqrt{0,09223} = 0 + 0,1110 \pm 0,3037$$

Các giới hạn tin cậy là 0,82 và 1,51 đơn vị/mg.

Ví dụ 3.2.8.2 Thử nghiệm 3 liều đơn chế phẩm, thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên theo khối không lặp
Thử nghiệm định lượng kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán dùng hộp Petri

Các dung dịch thử của chế phẩm chuẩn s_1 , s_2 và s_3 có nồng độ lần lượt là 2, 4 và 8 IU/ml. Chế phẩm thử có hoạt lực giả định là 1.500 IU/ml và cũng được pha thành 3 dung dịch thử u_1 , u_2 và u_3 có nồng độ tương đương với nồng độ các dung dịch của chế phẩm chuẩn. Mỗi hộp Petri đều có 3 dung dịch của chế phẩm chuẩn và 3 dung dịch của chế phẩm thử, trong đó mỗi dung dịch thử chỉ xuất hiện một lần duy nhất trong mỗi hộp Petri (không lặp). Trật tự sắp xếp các dung dịch thử trong mỗi hộp được phân bố như trong Bảng 13.10.13.

Các đáp ứng riêng và đáp ứng trung bình của mỗi dung dịch thử cho ở Bảng 13.10.14.

Bảng 13.10.13- Cách bố trí các dung dịch thử trong các hộp

Hộp số	Số vị trí trong hộp					
	1	2	3	4	5	6
1	u_2	u_3	s_3	s_1	u_1	s_2
2	s_3	u_1	s_2	u_3	s_1	u_2
3	u_3	u_2	s_1	s_3	s_2	u_1
4	s_1	s_2	u_3	u_1	u_2	s_3
5	u_1	s_1	u_2	s_2	s_3	u_3
6	s_2	s_3	u_1	u_2	u_3	s_1

Các đáp ứng riêng và trị trung bình đáp ứng của mỗi nồng độ được cho ở Bảng 13.10.14.

Bảng 13.10.14- Đáp ứng y - đường kính vòng vô khuẩn ($mm \times 10$)

Hộp số	Chế phẩm chuẩn <u>S</u>			Chế phẩm thử <u>U</u>			Tổng khối
	s_1	s_2	s_3	u_1	u_2	u_3	
1	176	205	235	174	202	232	$R_1 = 1224$
2	178	208	238	175	206	234	$R_2 = 1239$
3	178	207	237	177	203	236	$R_3 = 1238$
4	175	205	235	173	201	232	$R_4 = 1221$
5	176	206	235	174	204	231	$R_5 = 1226$
6	174	204	236	170	202	229	$R_6 = 1215$
Tổng cột	1057	1235	1416	1043	1218	1394	7363
Trung bình	176,2	205,8	236,0	173,8	203,0	232,3	
Phương sai	2,6	2,2	1,6	5,4	3,2	5,9	

Kiểm tra số liệu thu được bằng các phép thử tương tự như ở ví dụ 3.2.8.1 cho thấy thử nghiệm đáp ứng các điều kiện ở mục 3.1.1.

$$K = \frac{(\sum y)^2}{N} = \frac{7.363^2}{36} = 1.505.938,03$$

$$\sum y^2 = 1.527.127$$

Bảng 13.10.15- Các tổng đáp ứng và tương phản tuyến tính (xem công thức tính ở Bảng 13.10.3)

	Chế phẩm chuẩn <u>S</u>	Chế phẩm thử <u>U</u>	Tổng số
Liều thấp	$S_1 = 1.057$	$U_1 = 1.043$	
Liều trung gian	$S_2 = 1.235$	$U_2 = 1.218$	
Liều cao	$S_3 = 1.416$	$U_3 = 1.394$	
Tổng đáp ứng của chế phẩm	$S = 3.708$	$U = 3.655$	$\sum y = 7.363$
Tương phản tuyến tính	$L_S = 359$	$L_U = 351$	$\sum L = 710$
Tương phản bậc hai	$Q_S = 3$	$Q_U = 1$	$\sum Q = 4$

Các tổng các bình phương được tính bằng các công thức trong Bảng 13.10.5 và 13.10.6 với các số liệu ở Bảng 13.10.15.

$$\text{Chế phẩm} = \frac{S^2 + U^2}{18} - K = 78,026$$

$$\text{Hồi qui tuyến tính} = \frac{(L_S + L_U)^2}{24} = 21.004,167 = E$$

$$\text{Không song song} = \frac{L_S^2 + L_U^2}{12} - E = 2,666$$

$$\text{Độ cong} = \frac{Q_S^2 + Q_U^2}{6n} = \frac{3^2 + 1^2}{36} = 0,278$$

$$\text{Giữa các xử lý} = \frac{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 + U_1^2 + U_2^2 + U_3^2}{6} - K = 21.085,137$$

$$\text{Giữa các khối} = \frac{R_1^2 + R_2^2 + R_3^2 + R_4^2 + R_5^2 + R_6^2}{6} - K = 75,805$$

$$\text{Toàn phần} = \sum y^2 - K = 21.188,97$$

$$\text{Sai số dư} = \text{Toàn phần} - \text{Giữa các xử lý} - \text{Giữa các khối} = 28,03$$

Bảng 13.10.16- Phân tích phương sai

Nguồn biến thiên	Bậc tự do	Tổng các bình phương	Bình phương trung bình	Tỷ số F	Xác suất
Chế phẩm	1	78,03	78,03		
Hồi qui tuyến tính	1	21.004,17	21.004,17	18.737	< 0,01
Không song song	1	2,67	2,67	2,4	> 0,05
Độ cong	2	0,28	0,16	0,1	> 0,05
Giữa các xử lý	5	21.085,14			
Giữa các khối (hộp Petri)	5	75,80	15,16	13,5	< 0,01
Sai số dư	25	28,03	1,121		
Sai số toàn phần	35	21.188,97			

Kết quả phân tích phương sai cho thấy sự khác nhau có ý nghĩa cao ($P < 0,01$) của kích thước đường kính vòng vô khuẩn giữa các hộp Petri. Nếu thí nghiệm thiết kế theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn, biến thiên giữa các khối sẽ không được tách ra khỏi sai số toàn phần, do đó bình phương trung bình của sai số dư s^2 sẽ lớn hơn, dẫn đến khoảng tin cậy sẽ rộng hơn. Đây là ưu điểm của thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên theo khối so với thiết kế thí nghiệm kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn.

Phép thử tính có giá trị của thử nghiệm

Hồi qui tuyến tính rất có ý nghĩa ($P < 0,01$), các đại lượng không song song và độ cong không có ý nghĩa ($P > 0,05$), do đó thử nghiệm thỏa mãn cách tính hiệu lực.

Định giá hoạt lực và các giới hạn tin cậy

$$\bar{y}_U - \bar{y}_S = \frac{U - S}{3n} = \frac{3655 - 3708}{18} = \frac{-53}{18}$$

Tỷ lệ giữa các nồng độ kế tiếp bằng 2,0, do đó:

$$I = \ln(2) = 0,69315$$

$$b = \frac{L_S + L_U}{2Inh} = \frac{359 + 351}{2 \times I \times 6 \times 2} = \frac{710}{24I} = 42,6797$$

$$M' = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} = -0,0690$$

$$M = M' + \ln(A_U) = -0,0690 + \ln(1.500) = 7,2442$$

Hoạt lực của chế phẩm $\underline{U}$ là $R = \text{antiln}(M) = 1.400 \text{ IU/ml}$.

Với $P = 0,95$ và $f = 25$, $t = 2,06$ (Bảng 5.1), ta có:

$$C = \frac{E}{E - s^2 t^2} = \frac{21.004,17}{21.004,17 - 1,121 \times 2,06^2} = 1,0002$$

$$H = \frac{E}{b^2 dn} = \frac{21.004,17}{(42,6797)^2 \times 3 \times 6} = 0,640605$$

$$(C - 1)(CM'^2 + 2H) = (1,0002 - 1)(1,0002 \times (-0,0690)^2 + 2 \times 0,640605) = 0,00026$$

Các $\ln(\text{giới hạn tin cậy})$ bằng:

$$\ln(A_U) + CM' \pm \sqrt{0,00026} = \ln(1.500) + 1,0002 \times (-0,0690) \pm \sqrt{0,00026} = 7,2442 \pm 0,0160$$

Các giới hạn tin cậy bằng 1.378 và 1.423 IU/ml.

Nếu phân tích bằng máy tính, các kết quả sẽ là:

$$C = 1,000227$$

$$(C - 1)(CM'^2 + 2H) = 0,00029128$$

Khoảng tin cậy: 1.376,3 – 1.424,1 IU/ml.

Ví dụ 3.2.8.3 Thử nghiệm 3 liều đơn chế phẩm thiết kế hình vuông Latin không lặp

Thử nghiệm định lượng kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán, dùng khay vuông

Chế phẩm chuẩn có hoạt lực biết trước 4.855 IU/mg. Chế phẩm thử có hoạt lực giả định là 5.600 IU/mg. Pha các dung dịch gốc bằng cách hòa tan 25,2 mg chế phẩm chuẩn và 21,4 mg chế phẩm thử trong lượng vừa đủ dung môi pha loãng để được 25 ml. Sau đó, pha loãng các dung dịch gốc đến nồng độ pha loãng 1/20 và tiếp tục pha loãng xa hơn với tỷ lệ pha loãng 1:1,5 để được các dung dịch thử cuối cùng của chuẩn và mẫu.

Các dung dịch thử của chế phẩm chuẩn và chế phẩm thử được thiết kế trên khay theo bố trí thí nghiệm hình vuông Latin như trong Bảng 13.10.17. Các đường kính vòng vô khuẩn của thử nghiệm được trình bày trong Bảng 13.10.18. Trung bình đường kính vòng vô khuẩn, phương sai (var_i) và $\ln(var_i)$ của mỗi nhóm dung dịch thử trình bày trong Bảng 13.10.19.

Bảng 13.10.17- Cách bố trí các dung dịch thử trên khay

	1	2	3	4	5	6
1	s_1	u_1	u_2	s_3	s_2	u_3
2	u_1	u_3	s_1	s_2	u_2	s_3
3	u_2	s_3	s_2	s_1	u_3	u_1
4	s_3	s_2	u_3	u_1	s_1	u_2
5	s_2	u_2	s_3	u_3	u_1	s_1
6	u_3	s_1	u_1	u_2	s_3	s_2

Phép thử tính đồng nhất của các phương sai

Đối với một nhóm gồm k phương sai, trong đó mỗi phương sai có $f = (n - 1)$ bậc tự do, công thức tính sẽ như sau:

$$\chi^2 = \frac{3kf^2 \left[k \ln \left(\frac{\sum var_i}{k} \right) - \sum \ln var_i \right]}{3kf + k + 1}$$

Với $k = 6$, bậc tự do $f = 5$, công thức trên sẽ rút gọn thành:

$$\begin{aligned} \chi^2 &= \frac{450}{97} \times \left[6 \ln \left(\frac{\sum var_i}{6} \right) - \sum \ln var_i \right] \\ &= \frac{450}{97} \times \left(6 \ln \frac{209,20}{6} - 20,494 \right) = 3,78 \end{aligned}$$

Giá trị tính được nhỏ hơn giá trị tới hạn 11,07 đọc từ Bảng 5.2 với $P = 0,95$ và $f = (k - 1) = 5$. Do đó, sự khác biệt giữa các phương sai của mỗi nhóm dung dịch thử không có ý nghĩa thống kê.

Bảng 13.10.18- Đáp ứng y - đường kính vòng vô khuẩn ($mm \times 10$)

	1	2	3	4	5	6	Tổng hàng
1	161	160	178	187	171	194	$R_1 = 1.051$
2	151	192	150	172	170	192	$R_2 = 1.027$
3	162	195	174	161	193	151	$R_3 = 1.036$
4	194	184	199	160	163	171	$R_4 = 1.071$
5	176	181	201	202	154	151	$R_5 = 1.065$
6	193	166	161	186	198	182	$R_6 = 1.086$
Tổng cột	$C_1 = 1.037$	$C_2 = 1.078$	$C_3 = 1.063$	$C_4 = 1.068$	$C_5 = 1.049$	$C_6 = 1.041$	

Bảng 13.10.19- Trung bình đường kính vòng vô khuôn và phương sai của mỗi nhóm dung dịch thử

	Chế phẩm chuẩn S			Chế phẩm thử U			Tổng số
	s_1	s_2	s_3	u_1	u_2	u_3	
	161	171	187	160	178	194	
	150	172	192	151	170	192	
	161	174	195	151	162	193	
	163	184	194	160	171	199	
	151	176	201	154	181	202	
	166	182	198	161	186	193	
Tổng cột	952	1059	1167	937	1048	1173	
Trung bình	158,67	176,50	194,50	156,17	174,67	195,50	
Phương sai (var_i)	43,47	28,70	23,50	22,17	75,07	16,30	$\sum var_i = 209,20$
$\ln(var_i)$	3,772	3,357	3,157	3,099	4,318	2,791	$\sum \ln(var_i) = 20,494$

Bảng 13.10.20- Các tổng đáp ứng và tương phản tuyến tính (xem công thức tính ở Bảng 13.10.3)

	Chế phẩm chuẩn S	Chế phẩm thử U	Tổng số
Liều thấp	$S_1 = 952$	$U_1 = 937$	
Liều trung gian	$S_2 = 1.059$	$U_2 = 1.048$	
Liều cao	$S_3 = 1.167$	$U_3 = 1.173$	
Tổng đáp ứng của chế phẩm	$S = 3.178$	$U = 3.158$	$\sum y = 6.336$
Tương phản tuyến tính	$L_S = 215$	$L_U = 236$	$\sum L = 451$
Tương phản bậc hai	$Q_S = 1$	$Q_U = 14$	$\sum Q = 15$

$$K = \frac{(\sum y)^2}{N} = \frac{6.336^2}{36} = 1.115.136$$

$$\sum y^2 = 1.124.692$$

Các tổng các bình phương được tính bằng các công thức trong Bảng 13.10.5 và 13.10.6 với các số liệu ở Bảng 13.10.18 và Bảng 13.10.20.

$$\text{Chế phẩm} = \frac{S^2 + U^2}{3n} - K = \frac{3.178^2 + 3.158^2}{18} - 1.115.136 = 11,1111$$

$$\text{Hồi qui tuyến tính} = \frac{(L_S + L_U)^2}{2nh} = \frac{451^2}{24} = 8.475,0416 = E$$

$$\text{Không song song} = \frac{L_S^2 + L_U^2}{2n} - E = \frac{215^2 + 236^2}{12} - 8.475,0416 = 18,3750$$

$$\text{Độ cong (không tuyến tính)} = \frac{Q_S^2 + Q_U^2}{6n} = \frac{1^2 + 14^2}{36} = 5,4722$$

$$\text{Giữa các xử lý} = \frac{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 + U_1^2 + U_2^2 + U_3^2}{n} - K = \frac{952^2 + 1.059^2 + \dots + 1.173^2}{6} - 1.115.136 = 8.510$$

$$\text{Giữa các hàng} = \frac{R_1^2 + R_2^2 + R_3^2 + R_4^2 + R_5^2 + R_6^2}{k} - K = \frac{1.051^2 + 1.027^2 + \dots + 1.086^2}{6} - 1.115.136 = 412$$

$$\text{Giữa các cột} = \frac{C_1^2 + C_2^2 + C_3^2 + C_4^2 + C_5^2 + C_6^2}{k} - K = \frac{1.037^2 + 1.078^2 + \dots + 1.041^2}{6} - 1.115.136 = 218,6667$$

$$\text{Toàn phần} = \sum y^2 - K = 1.124.692 - 1.115.136 = 9.556$$

$$\text{Sai số dư} = \text{Toàn phần} - \text{Giữa các xử lý} - \text{Giữa các hàng} - \text{Giữa các cột} = 415,3333$$

Bảng 13.10.21- Phân tích phương sai

Nguồn biến thiên	Bậc tự do	Tổng các bình phương	Bình phương trung bình	Tỷ số F	Xác suất
Chế phẩm	1	11,1111	11,1111		
Hồi qui tuyến tính	1	8.475,0416	8.475,0416	408,1	< 0,01
Không song song	1	18,3750	18,3750	0,885	> 0,05
Độ cong	2	5,4722	2,7361	0,132	> 0,05
Giữa các xử lý	5	8510			
Giữa các hàng	5	412	82,40	3.968	< 0,05
Giữa các cột	5	218,6667	43,73	2,106	> 0,05
Sai số dư	20	415,3333	20,7667		
Sai số toàn phần	35	9.556			

Phân tích phương sai cho thấy sự khác nhau có ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa các hàng chứng tỏ thiết kế thí nghiệm hình vuông Latin cho độ chính xác cao hơn thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên hoàn toàn.

Phép thử tính có giá trị của thử nghiệm

Hồi qui tuyến tính rất có ý nghĩa ($P < 0,01$), tính không tuyến tính và tính không song song của các đường ln(liều) - đáp ứng không có ý nghĩa ($P > 0,05$), do đó thử nghiệm thỏa mãn các phép thử tính có giá trị.

Định giá hoạt lực và các giới hạn tin cậy

Tỷ lệ giữa các nồng độ kế tiếp nhau bằng 1,5, do đó $I = \ln(1,5) = 0,405465$. Với $P = 0,95$ và $f = 20$, $t = 2,09$ (Bảng 5.1).

$$\bar{y}_S = \frac{S}{N_S} = \frac{3.178}{18} = 176,556$$

$$\bar{y}_U = \frac{U}{N_U} = \frac{3.158}{18} = 175,444$$

$$b = \frac{L_S + L_U}{2Inh} = \frac{451}{24I} = 46,346$$

$$M' = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} = \frac{175,444 - 176,556}{46,346} = -0,023974$$

$$M = M' + \ln(A_U) = -0,023974 + \ln(5.600) = 8,606548$$

Hoạt lực của chế phẩm $\underline{U}$ là $R = \text{antiln}(M) = 5.467,3$ IU/mg.

$$C = \frac{E}{E - s^2 t^2} = \frac{8.475,0416}{8.475,0416 - 20,7667 \times 2,09^2} = 1,0108$$

$$H = \frac{E}{b^2 dn} = \frac{8.475,0416}{46,346^2 \times 3 \times 6} = 0,2192$$

Các ln(giới hạn tin cậy) được tính theo công thức:

$$\begin{aligned} \ln(A_U) + CM' \pm \sqrt{(C-1)(CM'^2 + 2H)} &= \\ = \ln(5.600) + 1,0108 \times (-0,023974) \pm \sqrt{0,0108 \times [1,0108 \times (-0,023974)^2 + 2 \times 0,2192]} &= \\ = 8,60629 \pm 0,06878 \end{aligned}$$

Các giới hạn tin cậy bằng 5.102,6 và 5.855,1 IU/mg ở $P = 0,05$

Vì các dung dịch gốc của chế phẩm chuẩn và chế phẩm thử có hoạt lực không hoàn toàn bằng nhau dựa trên hoạt lực giả định, cần hiệu chỉnh hoạt lực tính được và các giới hạn tin cậy bằng cách nhân với một hệ số hiệu chỉnh:

$$\frac{4.855 \times 25,2/25}{5.600 \times 21,4/25} = 1,02091$$

Sau khi hiệu chỉnh, hoạt lực tính được sẽ bằng 5.582 IU/mg với giới hạn tin cậy từ 5.209 IU/mg đến 5.977 IU/mg ở xác suất 95 %.

Ví dụ 3.2.8.4 Thiết kế chéo đôi

Thử nghiệm định lượng insulin bằng phương pháp tiêm dưới da thỏ

Các dung dịch của chế phẩm chuẩn có nồng độ 1 và 2 IU/ml. Hoạt lực giả định của chế phẩm thử là 40 IU/ml và được pha loãng thành các dung dịch có nồng độ tương đương với các dung dịch của chế phẩm chuẩn. Tiêm dưới da các thỏ thí nghiệm với liều 0,5 ml mỗi dung dịch thử theo thiết kế ở Bảng 13.10.22. Các kết quả thí nghiệm trình bày trong Bảng 13.10.23. Phương sai lớn cho thấy biến thiên lớn giữa các thử thí nghiệm và cần thiết phải dùng thiết kế thí nghiệm chéo.

Bảng 13.10.22- Cách sắp xếp các xử lý

Ngày thí nghiệm	Nhóm thử			
	1	2	3	4
Ngày I	s_1	s_2	u_1	u_2
Ngày II	u_2	u_1	s_2	s_1

Phép thử tính đồng nhất của các phương sai bằng phép kiểm Hartley

Tính tỷ số F theo công thức:

$$F = \frac{\text{var}_{\max.}}{\text{var}_{\min.}} = \frac{1.215,1}{230,6} = 5,3$$

Trong đó $\text{var}_{\max.}$ là phương sai lớn nhất và $\text{var}_{\min.}$ là phương sai nhỏ nhất trong k phương sai cần kiểm tra. F tính được ($F_{\text{cal}} = 5,3$) nhỏ hơn F tới hạn ($F_{\text{crit}} = 12,7$) đọc từ Bảng 5.3 với $P = 0,95$, $k = 8$ và bậc tự do $f = 7$. Do đó, sự khác nhau giữa các phương sai của mỗi nhóm dung dịch thử không có ý nghĩa thống kê. Nếu dùng phép kiểm Bartlett với cùng số liệu, giá trị tính được sẽ là 6,4 so với giá trị tới hạn bằng 14,1.

Trong các thử nghiệm dùng thiết kế chéo, các tổng đáp ứng và tương phản tuyến tính được tính riêng rẽ cho mỗi giai đoạn thí nghiệm. Kết quả thu được trình bày trong Bảng 13.10.24.

Bảng 13.10.23- Đáp ứng y: glucose huyết (mg/100 ml) ở 1 và 2½ giờ

	Nhóm 1			Nhóm 2			Nhóm 3			Nhóm 4		
	s_1	u_2	Tổng số	s_2	u_1	Tổng số	u_1	s_2	Tổng số	u_2	s_1	Tổng số
	112	104	216	65	72	137	105	91	196	118	144	262
	126	112	238	116	160	276	83	67	150	119	149	268
	62	58	120	73	72	145	125	67	192	42	51	93
	86	63	149	47	93	140	56	45	101	64	107	171
	52	53	105	88	113	201	92	84	176	93	117	210
	110	113	223	63	71	134	101	56	157	73	128	201
	116	91	207	50	65	115	66	55	121	39	87	126
	101	68	169	55	100	155	91	68	159	31	71	102
Tổng cột	765	662		557	746		719	533		579	854	5415
Trung bình	95,6	82,8		69,6	93,3		89,9	66,6		72,4	106,8	
Phương sai	709,7	627,9		525,1	1.012,5		479,6	230,6		1.214,3	1.215,1	

Bảng 13.10.24- Các tổng đáp ứng và tương phản tuyến tính

	Chế phẩm chuẩn S	Chế phẩm thử U	Tổng số
Ngày I			
Nồng độ thấp	$S_{I1} = 765$	$U_{I1} = 719$	
Nồng độ cao	$S_{I2} = 557$	$U_{I2} = 579$	
Tổng số	$S_I = 1.322$	$U_I = 1.298$	$D_I = 2.620$
Ngày II			
Nồng độ thấp	$S_{II1} = 854$	$U_{II1} = 746$	
Nồng độ cao	$S_{II2} = 533$	$U_{II2} = 662$	
Tổng số	$S_{II} = 1.387$	$U_{II} = 1.408$	$D_{II} = 2.795$
Tổng chế phẩm	$S = 2.709$	$U = 2.706$	$\sum y = 5.415$
Tương phản tuyến tính			
Ngày I	$L_{SI} = -208$	$L_{UI} = -140$	$L_I = -348$
Ngày II	$L_{SII} = -321$	$L_{UII} = -84$	$L_{II} = -405$
Tổng số	$L_S = -529$	$L_U = -224$	$\sum L = -753$

Phân tích phương sai trong các thử nghiệm thiết kế chéo phức tạp hơn các kiểu thiết kế thí nghiệm khác vì biến thiên do cấu phần tổng các bình phương, gây bởi tính song song không độc lập với biến thiên do cấu phần gây bởi sự khác nhau của thử. Tính song song của các đường hồi qui sẽ được kiểm tra bằng đại lượng bình phương trung bình của sai số dư thứ hai, được tính bằng cách lấy tổng các bình phương của cấu phần do sự khác nhau về thử (khối) trừ đi cấu phần không song song và hai cấu phần tương tác.

Ba cấu phần tương tác được đưa thêm vào phân tích phương sai là do sự lặp lại trong mỗi nhóm thử thí nghiệm, gồm:

Giữa các ngày $\times$ chế phẩm; Giữa các ngày $\times$ hồi qui; Giữa các ngày $\times$ tính song song.

Ba đại lượng này biểu thị khuynh hướng của 3 cấu phần (chế phẩm, hồi qui và song song) thay đổi từ ngày thí nghiệm này sang ngày thí nghiệm khác. Tính có giá trị của thử nghiệm phụ thuộc vào các tỷ số F tương ứng của ba đại lượng nói trên. Nếu F tính được rất có ý nghĩa, $F_{cal} > F_{crit}$ ở $P = 0,01$, cần phải rất thận trọng khi suy diễn các kết quả của thử nghiệm, và nếu có thể, phải lặp lại thử nghiệm.

$$K = \frac{(\sum y)^2}{N} = \frac{5.415^2}{64} = 458.159,77$$

$$\sum y^2 = 511.583$$

Tính giá trị của tổng các bình phương của chế phẩm, hồi qui và không song song theo công thức trong Bảng 13.10.5 với số liệu trong Bảng 13.10.24.

Chú ý trong thử nghiệm này $n = 16$, là tổng số đáp ứng của mỗi xử lý qua hai ngày thí nghiệm.

$$\text{Chế phẩm} = \frac{S^2 + U^2}{2n} - K = \frac{2.709^2 + 2.706^2}{32} - 458.159,77 = 0,14$$

$$\text{Hồi qui tuyến tính} = \frac{(L_S + L_U)^2}{2nh} = \frac{(-753)^2}{64} = 8.859,52 = E$$

$$\text{Không song song} = \frac{L_S^2 + L_U^2}{2n} - E = \frac{(-529)^2 + (-224)^2}{32} - 8.859,52 = 1.453,51$$

$$\text{Giữa các khối (thử)} = \frac{\sum B_i^2}{2} - K = \frac{216^2 + 238^2 + \dots + 102^2}{2} - 458.159,77 = 39.794,73$$

Trong đó B_i là các tổng đáp ứng của mỗi thử thí nghiệm trong Bảng 13.10.23.

$$\text{Giữa các ngày} = \frac{D_I^2 + D_{II}^2}{2n} - K = \frac{2.620^2 + 2.795^2}{32} - 458.159,77 = 478,51$$

Trong đó D_I và D_{II} là tổng đáp ứng của mỗi ngày thí nghiệm.

$$\text{Giữa các ngày} \times \text{Chế phẩm} = \frac{(S_I - S_{II} - U_I + U_{II})^2}{N} = \frac{[1.322 - 1.387 - 1.298 + 1.408]^2}{64} = 31,64$$

Trong đó S_I , S_{II} , U_I và U_{II} là tổng đáp ứng của từng chế phẩm trong mỗi ngày.

$$\text{Giữa các ngày} \times \text{hồi qui} = \frac{(L_{SII} - L_{SI} + L_{UII} - L_{UI})^2}{N} = \frac{[(-321) - (-208) + (-84) - (-140)]^2}{64} = 50,77$$

$$\text{Giữa các ngày} \times \text{Không song song} = \frac{(L_{SII} - L_{SI} - L_{UII} + L_{UI})^2}{N} = \frac{[(-321) - (-208) - (-84) + (-140)]^2}{64} = 446,27$$

Trong đó L_{SI} , L_{SII} , L_{UI} và L_{UII} là tương phản tuyến tính của mỗi ngày thí nghiệm.

$$\text{Toàn phần} = \sum y^2 - K = 511.583 - 458.159,77 = 53.423,23$$

$$\text{Sai số dư giữa các thử} = \text{Giữa các khối} - \text{Không song song} - (\text{Giữa các ngày} \times \text{chế phẩm}) - (\text{Giữa các ngày} \times \text{hồi qui}) = 39.794,73 - 1.453,51 - 31,64 - 50,76 = 38.258,81$$

$$\text{Sai số dư trong mỗi thử} = \text{Toàn phần} - \text{Giữa các khối} - \text{Giữa các ngày} - \text{Chế phẩm} - \text{Hồi qui} - (\text{Giữa các ngày} \times \text{không song song}) = 53.423,23 - 39.794,73 - 478,51 - 0,14 - 8.859,52 - 446,27 = 3.844,06$$

Phép thử tính có giá trị của thử nghiệm

Phân tích phương sai cho thấy thử nghiệm thỏa mãn phép thử tính có giá trị:

1) Hồi qui tuyến tính rất có ý nghĩa: tỷ số F của đại lượng hồi qui được tính dựa trên bình phương trung bình của sai số dư trong mỗi thử, $F_{cal.} = 64,5 > F_{crit.} = 7,63$ với $P = 0,01$, $f_1 = 1$ và $f_2 = 28$.

2) Tính không song song của đường hồi qui: phép thử tính không song song trong thiết kế chéo dựa trên bình phương trung bình của sai số dư giữa các thử, $F_{cal.} = 1,06 < F(P = 0,05, f_1 = 1, f_2 = 28) = 4,19$, chứng tỏ các đường ln(liều) – đáp ứng của chuẩn và mẫu song song với nhau.

3) Ba câu phần tương tác đều không có ý nghĩa, các tỷ số F tính được lần lượt là 0,02, 0,04 và 3,25 và đều nhỏ hơn $F_{crit.} = 4,19$.

Bảng 13.10.25- Phân tích phương sai

Nguồn biến thiên	Bậc tự do	Tổng các bình phương	Bình phương trung bình	Tỷ số F	Xác suất
Không song song	1	1.453,5	1.453,5	1,06	> 0,05
Giữa các ngày × chế phẩm	1	31,6	31,6	0,02	> 0,05
Giữa các ngày × hồi qui	1	50,8	50,8	0,04	> 0,05
Sai số dư giữa các thử	28	38.258,8	1.366,4		
Giữa các khối (thử)	31	39.794,7	1.283,7		
Chế phẩm	1	0,1	0,1	0,00	> 0,05
Hồi qui	1	8.859,5	8.859,5	64,5	< 0,01
Giữa các ngày	1	478,5	478,5	3,48	> 0,05
Giữa các ngày × không song song	1	446,3	446,3	3,25	> 0,05
Sai số dư trong mỗi thử	28	3.844,1	137,3		
Toàn phần	63	53.423,2	847,9878472		

Định giá hoạt lực và các giới hạn tin cậy

Tỷ lệ pha loãng bằng 2, do đó $I = \ln(2) = 0,69315$. Với $P = 0,95$ và $f = 28$, $t = 2,05$ (Bảng 5.1).

$$\bar{y}_U - \bar{y}_S = \frac{U - S}{2n} = \frac{2.706 - 2.709}{32} = \frac{-3}{32}$$

$$b = \frac{L_S + L_U}{2nI} = \frac{-753}{32I} = -33,948$$

$$M' = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} = \frac{-3}{32 \times (-33,948)} = 0,00276$$

$$M = M' + \ln(A_U) = 0,00276 + \ln(40) = 3,6916$$

Hoạt lực $R = \text{antiln}(M) = \text{antiln}(0,00276) = 40,1 \text{ IU/ml}$.

$$C = \frac{E}{E - s^2 t^2} = \frac{8.859,5}{8.859,5 - 137,3 \times 2,05^2} = 1,0697$$

$$H = \frac{E}{b^2 dn} = \frac{8.859,5}{(-33,948)^2 \times 2 \times 16} = 0,24023$$

$$(C-1)(CM'^2 + 2H) = 0,0697(1,0697 \times 0,00276^2 + 2 \times 0,24023) = 0,033488$$

Logarit các giới hạn tin cậy bằng:

$$\ln(A_U) + CM' \pm \sqrt{0,033488} = 3,6918 \pm 0,1830$$

Khoảng tin cậy của hoạt lực từ 33,4 đến 48,2 IU/ml.

4. Phối hợp các kết quả thử nghiệm

4.1 Mở đầu

Để đáp ứng các yêu cầu của Dược điển, ví dụ yêu cầu về độ chính xác, có thể phải lặp lại hai hay nhiều thử nghiệm độc lập và phối hợp các kết quả thử nghiệm để được kết quả cuối cùng chính xác và đáng tin cậy hơn. Hai thử nghiệm được coi là độc lập với nhau nếu quá trình thực hiện của mỗi thử nghiệm không gây bất cứ ảnh hưởng nào đến kết quả của thử nghiệm khác. Điều đó có nghĩa là các sai số ngẫu nhiên của các yếu tố chủ yếu ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm (ví dụ: sự pha loãng chế phẩm chuẩn và chế phẩm thử, độ nhạy của chỉ thị sinh học) của một thử nghiệm phải độc lập với các sai số ngẫu nhiên tương ứng của thử nghiệm kia. Các thử nghiệm thực hiện vào những ngày kế tiếp nhau dùng cùng dung dịch gốc của chế phẩm chuẩn không phải là những thử nghiệm độc lập.

Có nhiều phương pháp phối hợp kết quả của các thử nghiệm độc lập, tuy nhiên, dưới đây chỉ trình bày ba phương pháp gần đúng do tính đơn giản và dễ áp dụng của chúng.

Trước khi phối hợp, các hoạt lực phải được hiệu chỉnh với hoạt lực giả định của mỗi chế phẩm thử (xem ví dụ 3.2.8.3) và phải được biểu diễn dưới dạng logarit.

4.2 Phối hợp cân chỉnh (*weighted combination*) các kết quả thử nghiệm

Phương pháp này có thể áp dụng nếu thỏa mãn các điều kiện sau:

- 1) Các thử nghiệm phải độc lập với nhau;
- 2) Đại lượng C của mỗi thử nghiệm phải nhỏ hơn 1,1 (xem công thức 3.2.5-6 để biết công thức tính và ý nghĩa của C);
- 3) Bậc tự do của sai số dư của mỗi thử nghiệm không được nhỏ hơn 6, tốt nhất là lớn hơn 15;
- 4) Sự khác nhau giữa các định giá hoạt lực riêng phải không có ý nghĩa thống kê (xem mục 4.2.2).

Nếu các điều kiện trên không thỏa mãn, phương pháp này không được áp dụng. Khi đó dùng phương pháp giới thiệu ở mục 4.3 để tính hoạt lực trung bình và lấy kết quả tính được làm hoạt lực giả định cho lần thử nghiệm kế tiếp.

4.2.1 Tính các hệ số cân chỉnh W

Giả sử các kết quả đo của mỗi n' thử nghiệm đã được phân tích để được n' giá trị logarit hoạt lực M và các giới hạn tin cậy tương ứng. Đối với mỗi thử nghiệm, tính theo logarit khoảng tin cậy L bằng cách lấy giới hạn tin cậy trên trừ đi giới hạn tin cậy dưới. Tính hệ số cân chỉnh W cho mỗi giá trị của M theo phương trình 4.2.1.-1, với t có cùng giá trị như khi tính các giới hạn tin cậy.

$$W = \frac{4t^2}{L^2} \quad (4.2.1.-1)$$

4.2.2 Tính đồng nhất của các hoạt lực

Để kiểm tra tính đồng nhất của một dãy các logarit hoạt lực, thành lập biểu thức có phân phối xấp xỉ phân phối χ^2 như sau:

$$\chi^2 = \sum_{n'} W(M - \bar{M})^2 = \sum_{n'} (WM^2) - \frac{\left[\sum_{n'} (WM) \right]^2}{\sum_{n'} W} \quad (4.2.2.-1)$$

với:
$$\bar{M} = \frac{\sum WM}{\sum W}$$

Nếu χ^2 tính được nhỏ hơn giá trị tương ứng với bậc tự do $f = (n' - 1)$ tra từ Bảng 5.2, sự khác nhau giữa các hoạt lực không có ý nghĩa thống kê và, do đó, có thể tiếp tục tính hoạt lực trung bình và các giới hạn tin cậy theo các công thức ở mục 4.2.3.

Nếu χ^2 tính được lớn hơn giá trị tới hạn tương ứng đọc từ Bảng 5.2, các hoạt lực tính được không đồng nhất và không thể sử dụng các công thức ở mục 4.2.3, thay vào đó, có thể dùng các công thức ở mục 4.2.4.

4.2.3 Tính hoạt lực trung bình có cân chỉnh (weighted mean) và các giới hạn tin cậy

Logarit hoạt lực trung bình có cân chỉnh được tính theo công thức:

$$\bar{M} = \frac{\sum WM}{\sum W} \quad (4.2.3.-1)$$

Độ lệch chuẩn của logarit hoạt lực trung bình là căn bậc hai của nghịch đảo của tổng các hệ số cân chỉnh W :

$$s_{\bar{M}} = \sqrt{\frac{1}{\sum W}} \quad (4.2.3.-2)$$

và các logarit giới hạn tin cậy của hoạt lực trung bình được tính theo phương trình sau:

$$\bar{M} \pm ts_{\bar{M}} \quad (4.2.3.-3)$$

Trong đó t là giá trị tới hạn đọc được từ Bảng 5.2 với bậc tự do bằng tổng số bậc tự do của các sai số dư của mỗi thử nghiệm riêng.

4.2.4 Hoạt lực trung bình có cân chỉnh và các giới hạn tin cậy dựa trên biến thiên trong mỗi thử nghiệm và giữa các thử nghiệm

Khi phối hợp các kết quả của một số thử nghiệm lặp lại, giá trị χ^2 có thể có ý nghĩa. Biến thiên của các hoạt lực có thể phân tích thành hai cấu phần, gồm:

1) Biến thiên trong mỗi thử nghiệm $s_M^2 = 1/W$

2) Biến thiên giữa các thử nghiệm $s_{\bar{M}}^2 = \frac{\sum (M - \bar{M})^2}{n'(n' - 1)}$

với $\bar{M}$ là trung bình chưa cân chỉnh (trung bình số học) của các M . Biến thiên đầu thay đổi từ thử nghiệm này đến thử nghiệm khác, trong khi biến thiên sau là chung cho tất cả các M .

Đối với mỗi M , tính hệ số cân chỉnh theo công thức:

$$W' = \frac{1}{s_M^2 + s_{\bar{M}}^2}$$

Dùng W' thay thế cho W trong các công thức ở mục 4.2.3, với $t = 2$.

4.3 Phối hợp phi cân chỉnh (unweighted combination) các kết quả thử nghiệm

Cách phối hợp các kết quả thử nghiệm đơn giản nhất là tính trung bình số học của n' logarit hoạt lực M và sau đó tính độ lệch chuẩn của nó theo công thức:

$$s_{\bar{M}}^2 = \frac{\sum (M - \bar{M})^2}{n'(n' - 1)} \quad (4.3.-1)$$

Các logarit giới hạn tin cậy bằng:

$$\bar{M} \pm ts_{\bar{M}} \quad (4.3.-2)$$

Trong đó t có $(n' - 1)$ bậc tự do. Vì số các thử nghiệm cần phối hợp thường nhỏ nên giá trị của t khá lớn.

4.4 Ví dụ

Bảng 13.10.26 liệt kê các hoạt lực cùng các giới hạn tin cậy của 6 thử nghiệm độc lập của cùng một chế phẩm và bậc tự do của sai số dư tương ứng. Tất cả các thử nghiệm đều đáp ứng điều kiện 1, 2 và 3 trong mục 4.2. Các hệ số cân chỉnh W được tính theo công thức 4.2.1.-1 ở mục 4.2.

Phép thử tính đồng nhất của các hoạt lực

$$\chi^2 = \sum_{n'} W(M - \bar{M})^2 = \sum_{n'} (WM^2) - \frac{\left[\sum_{n'} (WM) \right]^2}{\sum_{n'} W} = 2.123.323,8792 - \frac{216.478,4988^2}{22.070,6028} = 4,42$$

χ^2 tính được 4,42 nhỏ hơn giá trị tới hạn 11,07 đọc từ Bảng 5.2 với bậc tự do $f=5$. Do đó, sự khác nhau giữa các hoạt lực không có ý nghĩa thống kê, và do đó đạt tất cả các điều kiện.

Bảng 13.10.26- Hoạt lực và các giới hạn tin cậy của sáu thử nghiệm độc lập

Lần thử nghiệm	Hoạt lực R (IU/lọ)	Các giới hạn tin cậy (IU/lọ)		Bậc tự do DF
		Giới hạn dưới	Giới hạn trên	
1	18.367	17.755	19.002	20
2	18.003	17.415	18.610	20
3	18.064	17.319	18.838	20
4	17.832	17.253	18.429	20
5	18.635	17.959	19.339	20
6	18.269	17.722	18.834	20
Tổng số				120

Bảng 13.10.27

Với $f=20$, $P=0,05$, bảng 5.1 cho $t=2,09$. Tính $W=4t^2/L^2$ theo công thức 4.2.1.-1

	$M = \ln(R)$	L^*	W	WM	WM^2
	9,8183	0,0679	3.777,8301	37.091,9101	364.179,9033
	9,7983	0,0664	3.951,6825	38.719,7456	379.387,4392
	9,8017	0,0841	2.462,5579	24.137,1950	236.584,9721
	9,7887	0,0659	4.003,1116	39.185,4586	383.576,6531
	9,8328	0,0740	3.175,7400	31.226,4061	307.042,9060
	9,8130	0,0609	4.699,6807	46.117,7833	452.552,0054
Tổng số	58,8528		22.070,6028	216.478,4988	2.123.323,8792

* $L = \ln(\text{giới hạn tin cậy trên}) - \ln(\text{giới hạn tin cậy dưới})$

Hoạt lực trung bình và các giới hạn tin cậy

Hoạt lực trung bình và các giới hạn tin cậy của nó được tính bằng các công thức ở mục 4.2.3 và các số liệu trong Bảng 13.10.26 và 13.10.27.

$$\bar{M} = \frac{\sum WM}{\sum W} = \frac{216.478,4988}{22.070,6028} = 9,8085$$

$$s_{\bar{M}} = \frac{1}{\sqrt{\sum W}} = \frac{1}{\sqrt{22.070,6028}} = 0,00673$$

Với số bậc tự do $f=120$, $P=0,95$, $t=1,98$.

$$\bar{M} \pm ts_{\bar{M}} = 9,8085 \pm 1,98 \times 0,00673 = 9,7951 \text{ và } 9,8218$$

Bằng cách lấy antilogarit các giá trị tính được, hoạt lực trung bình bằng 18.187 IU/lọ với khoảng tin cậy ở xác suất 95 % từ 17.946 đến 18.431 IU/lọ.

5. Các Bảng tra cứu**5.1 Bảng giá trị tới hạn của phân phối t**

f	P		f	P	
	0,05	0,01		0,05	0,01
1	12,71	63,66	18	2,10	2,88
2	4,30	9,92	19	2,09	2,86
3	3,18	5,84	20	2,09	2,85
4	2,78	4,60	21	2,08	2,83
5	2,57	4,03	22	2,07	2,82
6	2,45	3,71	23	2,07	2,81
7	2,36	3,50	24	2,06	2,80
8	2,31	3,36	25	2,06	2,79
9	2,26	3,25	26	2,06	2,78
10	2,23	3,17	27	2,05	2,77
11	2,20	3,11	28-29	2,05	2,76
12	2,18	3,05	30	2,04	2,75
13	2,16	3,01	40-43	2,02	2,7
14	2,14	2,98	57-63	2,00	2,66
15	2,13	2,95	102-126	1,98	2,26
16	2,12	2,92	600-∞	1,96	2,58
17	2,11	2,90			

Nếu giá trị quan sát lớn hơn giá trị trong bảng, nó được coi là có ý nghĩa ($P = 0,05$) hay rất có ý nghĩa ($P = 0,01$).

5.2 Bảng giá trị tới hạn của χ^2

f	P		f	P	
	0,05	0,01		0,05	0,01
1	3,84	6,63	11	19,68	24,73
2	5,99	9,21	12	21,03	26,22
3	7,81	11,34	13	22,36	27,69
4	9,49	13,28	14	23,68	29,14
5	11,07	15,09	15	25,00	30,58
6	12,59	16,81	16	26,30	32,00
7	14,07	18,48	20	31,41	37,57
8	15,51	20,09	25	37,65	44,31
9	16,92	21,67	30	43,77	50,89
10	18,31	23,21	40	55,76	63,69

Nếu giá trị quan sát lớn hơn giá trị trong bảng, nó được coi là có ý nghĩa ($P = 0,05$) hay rất có ý nghĩa ($P = 0,01$).

5.3 Giá trị tới hạn của tỷ số $F = var_{max}/var_{min}$ của k phương sai trong nhóm xử lý, mỗi phương sai có f bậc tự do (Hartley's test).

k	4	6	8	9	10	12
f						
4	20,6 49	29,5 69	37,5 89	41,1 97	44,6 106	51,4 120
5	13,7 28	18,7 38	22,9 46	24,7 50	26,5 54	29,9 60
6	10,4 19,1	13,7 25	16,3 30	17,5 32	18,6 34	20,7 37

7	8,44 14,5	10,8 18,4	12,7 22	13,5 23	14,3 24	15,8 27
8	7,18 11,7	9,03 14,5	10,5 16,9	11,1 17,9	11,7 18,9	12,7 21
9	6,31 9,9	7,80 12,1	8,95 13,9	9,45 14,7	9,91 15,3	10,7 16,6
10	5,67 8,6	6,92 10,4	7,87 11,8	8,28 12,4	8,66 12,9	9,34 13,9

Nếu F tính được lớn hơn giá trị trong bảng, biến số cần kiểm tra được coi là có ý nghĩa (dòng trên, $P = 0,05$), hay rất có ý nghĩa (dòng dưới, $P = 0,01$).

6. Bảng chú giải các ký hiệu

Ký hiệu	Định nghĩa
b	Độ dốc hồi qui tuyến tính của đường thẳng liều – đáp ứng hay $\ln(\text{liều})$ – đáp ứng của tất cả các chế phẩm trong một thử nghiệm
d	Số mức liều của mỗi chế phẩm trong một thử nghiệm đối xứng
e	Cơ số của logarit tự nhiên. $e = 2,718281828....$
f	Số bậc tự do
h	Số chế phẩm trong một thử nghiệm, kể cả chế phẩm chuẩn
k	Số xử lý trong một thử nghiệm, $k = dh$
n	Số thí nghiệm lặp lại hoặc số đơn vị thí nghiệm của mỗi xử lý
n'	Số các định giá hoạt lực riêng
s	Độ lệch chuẩn, $s = \sqrt{s^2}$
s_1, s_2, s_3	Nồng độ liều thấp, trung gian và cao của chế phẩm chuẩn S . Trong một định lượng chỉ có 2 nồng độ của mỗi chế phẩm s_2 đại diện cho nồng độ cao
s^2	Trị định giá của phương sai được tính từ bình phương trung bình của sai số dư. $s_{\bar{y}}^2$ là phương sai của logarit hoạt lực M
t	Thống kê t của Student (Bảng 5.1)
t'	Thống kê t' của Dunnett (Bảng 13.10.8)
$u_1...z_3$	Nồng độ (liều) của các chế phẩm thử $U...Z$
y	Đáp ứng riêng hay đáp ứng riêng đã được chuyển đổi
y'	Đáp ứng tính được dùng để thay thế cho giá trị bị mất
$\bar{y}_S... \bar{y}_Z$	Đáp ứng trung bình của chế phẩm chuẩn và các chế phẩm thử
$A_U...A_Z$	Hoạt lực giả định của các chế phẩm thử $U...Z$, là hoạt lực được dùng để tính lượng chế phẩm cần lấy khi pha các dung dịch thử
$B_1...B_{2n}$	Tổng đáp ứng của mỗi đơn vị thí nghiệm (1 đến $2n$) trong thử nghiệm chéo đôi
B'	Tổng đáp ứng của khối hay hàng có chứa giá trị bị mất
C	Đại lượng biểu thị ý nghĩa của hồi qui, dùng trong tính toán các giới hạn tin cậy (phương trình 3.2.5-5). Trong một số tài liệu thống kê kết quả thử nghiệm sinh học, ý nghĩa của hồi qui được biểu thị bằng g: $C = \frac{1}{1 - g}$

$C_1...C_n$	Tổng đáp ứng của mỗi cột (1 đến n) trong thiết kế hình vuông Latin
C'	Tổng đáp ứng của cột không kể một giá trị bị mất trong thiết kế hình vuông Latin
D	liều
D_I, D_{II}	Tổng đáp ứng của giai đoạn I và giai đoạn II trong thiết kế chéo đôi
E	Tổng các bình phương của đại lượng hồi qui (Bảng 13.10.5)
F	Tỷ số của hai trị định giá độc lập của phương sai theo phân phối F (Bảng 13.10.7)
G'	Tổng đáp ứng trong một thử nghiệm không kể giá trị bị mất
I	Khoảng cách giữa các ln(liều) kế tiếp nhau, $I = \ln(s_2) - \ln(s_1) = \ln(s_2/s_1)$
K	Đại lượng được dùng để tính tổng các bình phương trong phân tích phương sai $K = \frac{(\sum y)^2}{N}$
L	Độ rộng của logarit giới hạn tin cậy, $L = \ln(\text{giới hạn tin cậy trên}) - \ln(\text{giới hạn tin cậy dưới})$
$L_S...L_Z$	Tương phản tuyến tính của chế phẩm chuẩn và các chế phẩm thử (Bảng 13.10.2, 13.10.3 và 13.10.4)
M	Trị định giá của logarit hoạt lực, trong thử nghiệm đa chế phẩm, M được dùng kèm với một ký tự ($U...Z$), ví dụ M_{U_1} , để chỉ rõ một chế phẩm riêng ($M = \ln R$).
$\bar{M}$	Trung bình của một vài trị định giá độc lập của M
M'	Logarit tỷ lệ hoạt lực hay trị định giá của logarit hoạt lực trước khi hiệu chỉnh với hoạt lực giả định ($M' = \ln R'$)
N	Tổng số đáp ứng trong một định lượng
N_S, N_U	Tổng số đáp ứng của chế phẩm $\underline{S}$ và $\underline{U}$
P	Xác suất
$Q_S...Q_Z$	Tương phản bậc hai của chế phẩm chuẩn và các chế phẩm thử
R	Hoạt lực định giá được dùng với một ký tự ($U...Z$), ví dụ R_u để chỉ rõ một chế phẩm thử riêng trong một thử nghiệm đa chế phẩm ($R = \text{antiln} M$)
R'	Định giá hoạt lực hoặc tỷ số hoạt lực trước khi hiệu chỉnh bởi hoạt lực giả định ($R' = \text{antiln} M'$).
$R_1...R_n$	Tổng đáp ứng của mỗi hàng (1 đến n) trong thiết kế hình vuông Latin, hay mỗi khối trong thiết kế ngẫu nhiên theo khối.
$\underline{S}$	Chế phẩm chuẩn
S	Tổng đáp ứng của chế phẩm chuẩn
S_1, S_2, S_3	Tổng đáp ứng của liều (nồng độ) thấp, trung gian và cao của chế phẩm chuẩn $\underline{S}$. Trong một thử nghiệm chỉ có 2 mức liều, S_2 là tổng đáp ứng của liều cao
T'	Tổng đáp ứng trong một xử lý không kể giá trị bị mất
$U...Z$	Tổng đáp ứng của các chế phẩm thử $\underline{U}...Z$
$\underline{U}...Z$	Các chế phẩm cần thử
U_1, U_2, U_3	Tổng đáp ứng của liều thấp, trung gian và cao của chế phẩm $\underline{U}$, trong một định lượng chỉ có 2 nồng độ của mỗi chế phẩm U_2 đại diện cho nồng độ cao
W	Hệ số cân chỉnh dùng trong phối hợp một số định giá độc lập (phương trình 4.2.1.-1)
X	$\ln(\text{liều})$

PHỤ LỤC 14

14. HƯỚNG DẪN ĐÁNH GIÁ SINH KHẢ DỤNG VÀ TƯƠNG ĐƯƠNG SINH HỌC INVIVO CÁC CHẾ PHẨM THUỐC

Sinh khả dụng biểu thị tốc độ và mức độ hấp thu của dược chất từ chế phẩm thuốc vào hệ tuần hoàn. Hai chế phẩm được coi là tương đương sinh học nếu sinh khả dụng khác nhau không đáng kể khi dùng cùng mức liều trong cùng điều kiện thử nghiệm.

Mức độ hấp thu dược chất từ các chế phẩm dùng đường uống hoặc dùng tại chỗ có thể bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố. Trong đó, các yếu tố ảnh hưởng đáng kể đến quá trình hấp thu là kỹ thuật sản xuất, kích thước hạt, dạng tinh thể của dược chất, các tá dược như: Tá dược độn, dính, rã, trơn, bao, tá dược làm tăng độ tan, tá dược gây tác dụng kéo dài... Sinh khả dụng là một chỉ số quan trọng đảm bảo chất lượng thực của sản phẩm, và tương đương sinh học là cơ sở chủ yếu để đảm bảo độ đồng nhất về chất lượng giữa các chế phẩm khác nhau của cùng một dược chất. Hai khái niệm này có thể không hoàn toàn giống nhau, nhưng về phương pháp thử nghiệm thì tương tự. Hướng dẫn này đưa ra một số nguyên tắc cơ bản trong đánh giá sinh khả dụng và tương đương sinh học để thu được kết quả tin cậy. Chế phẩm thuốc có cần phải đánh giá sinh khả dụng và tương đương sinh học hay không tùy thuộc vào quy định của Bộ Y tế.

Những yêu cầu cơ bản của phương pháp phân tích mẫu sinh học

Các phương pháp sắc ký, như sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), sắc ký khí (GC) và các kỹ thuật phối hợp, GC - MS, LC - MS, là những phương pháp tốt nhất được sử dụng trong nghiên cứu sinh khả dụng và đánh giá tương đương sinh học. Những phương pháp này có tính đặc hiệu cao; có khả năng tách và định lượng trên cùng một hệ thống và cùng thời điểm. Nếu chọn được một detector có độ nhạy thích hợp, phương pháp sẽ đáp ứng được yêu cầu phân tích các loại mẫu sinh học. Trong một số trường hợp, có thể sử dụng phương pháp phân tích sinh hóa và sinh học nếu cần.

Do quá trình phân tích mẫu sinh học bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như lượng mẫu ít, nồng độ thấp, lẫn nhiều tạp chất là các chất nội sinh (các muối vô cơ, lipid, protein và chất chuyển hóa) và sự khác nhau giữa các cá thể, nên phương pháp phân tích phải được thiết lập và thẩm định để đảm bảo độ tin cậy.

1. Tính đặc hiệu: Phải chứng minh được rằng chất xác định được là dược chất hay chất chuyển hóa có tác

dụng. Sự phân tích mẫu không bị ảnh hưởng bởi các chất nội sinh và chất chuyển hóa có liên quan. Báo cáo kết quả phải bao gồm cả sắc ký đồ của mẫu trắng (dịch sinh học), mẫu chất chuẩn pha trong dịch sinh học và mẫu thử thu được sau khi dùng thuốc.

2. Đường chuẩn và khoảng tuyến tính: Mỗi quan hệ giữa đáp ứng với nồng độ của chất phân tích phải được đánh giá bằng phương trình hồi quy, thu được bằng phương pháp phân tích hồi quy (như phương pháp bình phương nhỏ nhất). Khoảng tuyến tính là khoảng nồng độ từ thấp nhất đến cao nhất trong một đường chuẩn. Trong khoảng này, phép phân tích phải thỏa mãn các yêu cầu về độ đúng và độ chính xác theo qui định.

Đường chuẩn nên có ít nhất 5 nồng độ của chất chuẩn pha trong cùng một mẫu dịch sinh học. Khoảng tuyến tính phải bao gồm toàn bộ khoảng nồng độ của các mẫu cần phân tích. Không nên xác định nồng độ mẫu thử dựa trên điểm ngoại suy của khoảng tuyến tính. Đường chuẩn sẽ không bao giờ có điểm "0".

3. Độ đúng và độ chính xác: Độ đúng và độ chính xác được xác định cùng lúc bằng cách sử dụng 3 nồng độ của mẫu cần kiểm tra, 1 nồng độ gần với giới hạn nhỏ nhất của phương pháp định lượng (LLOQ); 1 nồng độ gần với điểm giới hạn trên của đường chuẩn và 1 nồng độ ở gần điểm giữa. Mỗi nồng độ phải được xác định trên ít nhất 5 mẫu.

Độ chính xác có thể được biểu thị bằng hệ số biến thiên (CV) trong ngày và giữa các ngày, được xác định trên mẫu chuẩn đối chứng. Nói chung, CV không nên vượt quá 15 %, riêng điểm gần giới hạn định lượng cho phép không vượt quá 20 %.

Độ đúng được biểu thị là khả năng tiến tới gần nồng độ thực nhất của chất phân tích trong mẫu sinh học được xác định bằng phương pháp đặc biệt. Điều đó có thể được biểu thị bằng khả năng tìm lại tương đối, và phải nằm trong khoảng 85 % đến 115 %, nhưng có thể chấp nhận 80 % đến 120 % đối với điểm gần giới hạn định lượng dưới.

4. Giới hạn định lượng: Giới hạn định lượng, hay còn gọi là độ nhạy, là nồng độ thấp nhất của đường chuẩn có thể xác định được với độ đúng và độ chính xác cho phép. Giới hạn định lượng ít nhất phải thỏa mãn khả năng phân tích nồng độ của mẫu thử lấy ở thời điểm bằng 3 đến 5 lần thời gian bán thải hoặc bằng 1/10 đến 1/20 giá trị C_{max} của chất phân tích.

5. Độ ổn định của mẫu thử: Độ ổn định của mẫu sinh học có chứa chất phân tích cần được khảo sát khi bảo quản ở nhiệt độ phòng, đông lạnh trong khoảng thời gian khác nhau để xác định điều kiện bảo quản và thời gian bảo quản mẫu sau khi lấy.

6. Tỷ lệ thu hồi: Khả năng tìm lại sau khi chiết được đánh giá với ít nhất 3 nồng độ: Cao, trung bình và thấp của đường chuẩn. Chỉ tiêu giới hạn có thể tham khảo những tài liệu liên quan.

7. **Mẫu chuẩn kiểm tra (QC):** Mẫu chuẩn kiểm tra được dùng để so sánh khi định lượng là những mẫu tự tạo biết trước nồng độ, chuẩn bị bằng cách pha chất chuẩn của chất cần phân tích trong mẫu sinh học trắng.

8. **Phân tích mẫu thử:** Định lượng các mẫu thử bằng phương pháp phân tích đã được thẩm định. Mỗi mẫu thử có thể phân tích 1 lần hoặc lặp lại nếu cần. Với mỗi lô mẫu phân tích sinh học (các mẫu phân tích cùng một thời gian trong một buổi hoặc ngày), nên thiết lập một đường chuẩn mới để phân tích và dùng các mẫu QC với 3 nồng độ (thấp, trung bình và cao) để định lượng đồng thời trong mỗi lô phân tích. Nói chung, độ lệch giữa kết quả của mẫu chuẩn kiểm tra và giá trị thực không được quá 15 %.

Quy định chung

1. Lựa chọn người tình nguyện

Tiêu chuẩn: Trong nghiên cứu sinh khả dụng và tương đương sinh học, đa số trường hợp thường chọn người tình nguyện là nam giới khỏe mạnh. Một số trường hợp cần thiết có thể dùng đối tượng là phụ nữ, khi đó cần giải thích rõ. Với thuốc dùng cho trẻ em, vẫn nên chọn người lớn để thử nghiệm. Các tiêu chuẩn cụ thể như sau:

a, Giới tính: Nam hoặc nữ.

b, Tuổi: Thông thường từ 18 tuổi đến 55 tuổi. Trong cùng một nhóm nghiên cứu, giữa các cá thể, khác nhau không quá 10 tuổi.

c, Trọng lượng cơ thể: Trọng lượng cơ thể tiêu chuẩn $\pm 10\%$, trọng lượng cơ thể của các cá thể trong cùng nhóm nghiên cứu nên gần giống nhau. Đơn vị khối lượng là kg.

d, Người tình nguyện phải khỏe mạnh, không có tiền sử về bệnh tim mạch, bệnh gan, bệnh đường tiêu hóa, bệnh chuyển hóa không bình thường hoặc bệnh về hệ thần kinh. Phải kiểm tra sức khỏe bao gồm các chỉ tiêu: khám lâm sàng tổng quát, huyết áp, nhịp tim, chức năng gan, thận, phổi và công thức máu, tất cả các chỉ số phải trong giới hạn bình thường. Khi thử những thuốc đặc biệt, có thể phải kiểm tra thêm một số chỉ tiêu khác, ví dụ như đường huyết khi thử nghiệm những thuốc có ảnh hưởng đến đường huyết. Nếu đối tượng là phụ nữ thì phải xét nghiệm và đảm bảo không mang thai.

e, Không có tiền sử về dị ứng và hạ huyết áp tư thế.

f, Không dùng các đối tượng nghiện ma túy, nghiện rượu, thuốc lá. Trong quá trình thử nghiệm không được sử dụng thuốc lá, rượu và những thức uống khác có chứa cafein. Không được dùng bất kỳ thuốc gì trong vòng 2 tuần trước và trong quá trình thử nghiệm.

g, Người nghiên cứu và người tình nguyện đều phải ký vào bản cam kết tự nguyện tham gia nghiên cứu.

Số lượng người tình nguyện: Số lượng người tình nguyện phải đủ theo yêu cầu và được tính theo nguyên tắc dùng với số lượng nhỏ nhất cá thể mà vẫn đảm bảo yêu cầu mức độ tin cậy trong tính thống kê của phép thử. Số lượng có thể thay đổi tùy từng thuốc và các quy định liên quan nhưng không nên ít hơn 12.

2. **Chế phẩm đối chứng (thuốc đối chứng):** Chế phẩm đối chứng dùng trong đánh giá sinh khả dụng và tương đương sinh học là để so sánh. Chế phẩm đối chứng phải an toàn và hiệu quả, được lựa chọn theo nguyên tắc sau:

- Khi nghiên cứu sinh khả dụng tuyệt đối, nên chọn thuốc đối chứng là một chế phẩm tiêm tĩnh mạch đang được lưu hành.

- Khi nghiên cứu sinh khả dụng tương đối hoặc tương đương sinh học, thuốc đối chứng thường được chọn là chế phẩm phát minh hoặc một chế phẩm cùng loại, có uy tín trên thị trường trong nước hoặc nước ngoài đang được lưu hành.

3. **Chế phẩm thử (thuốc thử):** Chế phẩm thử phải đạt các yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn và yêu cầu trong thực hành lâm sàng. Phải có đủ các dữ liệu in vitro về độ hoà tan, độ ổn định, hàm lượng hoặc hoạt lực. Đối với chế phẩm đặc biệt, cần phải có thêm những tài liệu về cấu trúc tinh thể và đồng phân quang học.

4. **Thiết kế nghiên cứu:** Khi so sánh 2 chế phẩm, tức là thuốc thử và thuốc đối chứng, người ta thường áp dụng thiết kế chéo, 2 thuốc, 2 giai đoạn. Để hạn chế ảnh hưởng của sự khác biệt giữa các cá thể và giai đoạn thử nghiệm, các đối tượng nghiên cứu được chia ngẫu nhiên thành 2 nhóm. Một nhóm sẽ được sử dụng thuốc thử trước và thuốc chứng sau; ngược lại, nhóm kia sử dụng thuốc chứng trước và thuốc thử sau. Giữa 2 giai đoạn thử, cần có một khoảng thời gian để đảm bảo cho thuốc của lần thử trước loại hết ra khỏi cơ thể, thường từ 1 đến 2 tuần. Để so sánh 3 chế phẩm: 2 thuốc thử và một thuốc chứng, người ta thường sử dụng nghiên cứu chéo, 3 thuốc, 3 giai đoạn. Tương tự, thời gian rửa giải cần để loại trừ thuốc ra khỏi cơ thể giữa các giai đoạn thường từ 1 đến 2 tuần.

Thời điểm lấy mẫu: Thiết kế thời điểm lấy mẫu rất quan trọng để thu được kết quả nghiên cứu tin cậy. Cần phải lấy một điểm trước khi uống thuốc (mẫu trắng, thời điểm 0). Một đường cong nồng độ thuốc trong máu hoàn thiện phải bao gồm cả các pha hấp thu, phân bố và thải trừ. Thông thường, ít nhất nên có 4 thời điểm lấy mẫu trước khi đạt tới đỉnh của đường cong nồng độ – thời gian, 6 hoặc nhiều hơn điểm lấy mẫu sau đỉnh, 3 giá trị xung quanh đỉnh của đường cong, tổng số điểm lấy mẫu nên nhiều hơn 11. Thời gian lấy mẫu nên kéo dài tới khoảng 3 đến 5 lần thời

gian bán thải của dược chất hoặc khi nồng độ trong máu ở trong khoảng 1/10 đến 1/20 giá trị C_{max} . Mẫu máu (huyết tương, huyết thanh hay máu toàn phần) phải bảo quản đông lạnh ngay sau khi lấy để chờ phân tích.

Khi không thể xác định được nồng độ thuốc trong huyết tương, có thể thực hiện trên một mẫu sinh học khác như nước tiểu, nhưng chất xác định được và phương pháp phân tích phải phù hợp với những yêu cầu về đánh giá sinh khả dụng.

5. Xác định liều thử: Trong nghiên cứu sinh khả dụng và tương đương sinh học, liều thử thường giống với liều dùng trong lâm sàng. Tốt nhất là liều thử của thuốc thử giống với liều thử của thuốc chứng. Trong trường hợp phải sử dụng liều khác nhau, phải nêu rõ lý do và phải điều chỉnh liều để tính toán sinh khả dụng phù hợp.

6. Quy trình nghiên cứu: Người tình nguyện nhịn ăn qua đêm (ít nhất là 10 giờ trước khi uống thuốc). Sáng hôm sau, mỗi người sẽ được cho uống một liều thuốc thử hoặc thuốc chứng với 240 ml nước ấm, không uống nước trong vòng 1 giờ trước và sau khi uống thuốc trừ khi uống thuốc. Nếu không có yêu cầu gì đặc biệt, người tình nguyện dùng bữa ăn tiêu chuẩn sau 4 giờ. Khẩu phần ăn được qui định giống nhau cho tất cả người tình nguyện và cho cả 2 giai đoạn của mỗi nghiên cứu. Tiến hành lấy mẫu máu tĩnh mạch theo thời điểm lấy mẫu đã thiết kế. Theo qui định, các mẫu máu (máu, huyết tương, huyết thanh) sau khi lấy sẽ được bảo quản đông lạnh ngay để chờ phân tích. Sau khi uống thuốc, người tình nguyện nên tránh các vận động phải gắng sức. Quá trình lấy mẫu máu phải được thực hiện trong phòng có bác sĩ và đủ điều kiện chăm sóc y tế. Nếu có tác dụng phụ xảy ra, cần phải xử trí và điều trị kịp thời. Nghiên cứu có thể phải ngừng lại, nếu cần.

7. Phân tích dược động học: Lập các bảng và hình để biểu thị các dữ liệu nồng độ thuốc trong huyết tương vào những thời điểm lấy mẫu khác nhau của từng cá thể, giá trị trung bình và độ lệch chuẩn. Sau đó tính các thông số dược động học tương đối của mỗi cá thể, giá trị trung bình và độ lệch chuẩn cho mỗi thông số. Những thông số dược động học chính là nồng độ đỉnh trong máu (C_{max}), diện tích dưới đường cong nồng độ - thời gian (AUC), nửa đời thải trừ ($T_{1/2}$) và thời điểm đạt tới nồng độ đỉnh trong máu (T_{max}). C_{max} và T_{max} biểu thị bằng số liệu thu được trực tiếp từ thí nghiệm và không phải tính toán. AUC_{0-t_n} (diện tích dưới đường cong nồng độ - thời gian từ thời điểm 0 đến thời điểm t) được tính theo phương pháp hình thang, với t_n là thời điểm lấy mẫu cuối cùng có thể định lượng được. $AUC_{0-\infty}$ (diện tích dưới đường cong nồng độ - thời gian từ thời điểm 0 đến vô cùng) được tính toán theo công thức:

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t_n} + C_{t_n} / \lambda_z,$$

Trong đó:

C_{t_n} là nồng độ của thuốc tại thời điểm lấy mẫu cuối cùng;

λ_z là hằng số tốc độ thải trừ.

$T_{1/2}$ có thể được tính bằng công thức:

$$T_{1/2} = 0,693 / \lambda_z,$$

Trong đó:

λ_z được tính từ độ dốc của đoạn tuyến tính trên đường biểu diễn logarit nồng độ - thời gian.

AUC_{0-t_n} từ thời điểm 0 đến thời điểm cuối cùng phải thỏa mãn:

$$(AUC_{0-t_n} / AUC_{0-\infty}) \times 100 \% > 80 \ \%.$$

8. Tính toán sinh khả dụng

(1) *Dùng đơn liều:* Sinh khả dụng F được tính toán lần lượt bằng cách sử dụng AUC_{0-t_n} và $AUC_{0-\infty}$ của mỗi cá thể, đồng thời tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn. Khi liều của thuốc thử (T) giống với liều của thuốc đối chứng (R).

$$F = (AUC_{0-t_n})_T / (AUC_{0-t_n})_R \times 100 \ \%$$

$$F = (AUC_{0-\infty})_T / (AUC_{0-\infty})_R \times 100 \ \%$$

Khi liều thuốc thử khác với liều thuốc đối chứng và chất được phân tích đặc trưng cho dược động học tuyến tính, chỉ số F có thể thay đổi phụ thuộc vào liều và được thể hiện dưới đây:

$$F = [(AUC_{0-t_n})_T \times D_R / (AUC_{0-t_n})_R \times D_T] \times 100 \ \%$$

$$F = [(AUC_{0-\infty})_T \times D_R / (AUC_{0-\infty})_R \times D_T] \times 100 \ \%$$

Trong đó:

D_R và D_T là liều uống của thuốc chứng và thuốc thử.

Phân tích các chất chuyển hoá: Một vài thuốc là dạng tiền chất của thuốc không thể định lượng được trong máu vì dạng tiền chất của thuốc chuyển hoá rất nhanh trong cơ thể. Sinh khả dụng của những loại thuốc này có thể được đánh giá qua đáp ứng thích hợp của chất chuyển hoá có hoạt tính.

$$F = [(AUC_{0-t_n})^m_T \times D_R / (AUC_{0-t_n})^m_R \times D_T] \times 100 \ \%$$

$$F = [(AUC_{0-\infty})^m_T \times D_R / (AUC_{0-\infty})^m_R \times D_T] \times 100 \ \%$$

Trong đó:

m là ký hiệu cho chất chuyển hóa.

Đánh giá kết quả chủ yếu dựa vào số liệu AUC_{0-t_n} và $AUC_{0-\infty}$ được dùng như một số liệu để tham khảo.

(2) *Dùng đa liều:* Nếu trạng thái ổn định đạt được sau khi uống nhiều liều, sinh khả dụng có thể được ước tính bằng trung bình nồng độ thuốc trong huyết tương ở trạng thái ổn định.

a. Mức độ hấp thu của thuốc tương tự nhau, nhưng có thể khác về tốc độ hấp thu.

- b. Sinh khả dụng giữa các cá thể khác nhau nhiều.
- c. Thuốc giải phóng có kiểm soát, tác dụng kéo dài.
- d. Sau khi uống liều đơn, nồng độ của thuốc dưới dạng tiền chất của thuốc hoặc chất chuyển hoá thấp, không thể xác định được bởi phương pháp phân tích thích hợp.

Sau khi uống đa liều với cách khoảng thời gian t bằng nhau có thể đạt tới trạng thái ổn định, lấy mẫu máu nhiều lần trong quá trình uống thuốc. Phân tích xác định nồng độ thuốc và tính giá trị AUC_{0-t}^{ss} . Khi liều của thuốc thử giống thuốc đối chứng, sinh khả dụng tương đối có thể được tính toán theo biểu thức:

$$F = (AUC_T^{ss} / AUC_R^{ss}) \times 100 \%$$

Trong đó:

AUC_T^{ss} và AUC_R^{ss} là AUC ở trạng thái ổn định của chế phẩm thử và chế phẩm đối chứng.

9. Đánh giá tương đương sinh học (phân tích thống kê các số liệu dược động học): Phân tích thống kê và đánh giá tương đương sinh học nên tập trung vào các thông số dược động học chính (ví dụ như AUC, Cmax). Sau khi chuyển đổi những số liệu AUC và Cmax sang thang logarit, phân tích thống kê theo phương pháp phân tích phương sai và phương pháp khoảng tin cậy 2 bên (two – tail). Nếu giới hạn khoảng tin cậy 90 % của AUC với chế phẩm thử nằm trong khoảng 80,0 % đến 125,0 % của chế phẩm đối chứng và Cmax nằm trong khoảng 70,0 % đến 143,0 % của chế phẩm đối chứng, hai chế phẩm được coi là tương đương sinh học.

Thuốc tác dụng kéo dài: Nghiên cứu sinh khả dụng và tương đương sinh học *in vivo* của các dạng thuốc tác dụng kéo dài và thuốc giải phóng có kiểm soát được xác định khi dùng đơn liều hoặc đa liều.

1. Đơn liều, thử chéo hai giai đoạn. Mục đích của nghiên cứu này là để so sánh tốc độ và mức độ hấp thu của thuốc thử và thuốc chứng trên người tình nguyện trong tình trạng đói, để xác định xem thuốc có đặc tính giải phóng có kiểm soát hoặc kéo dài không và có tương đương sinh học với chế phẩm đối chứng không.

(1) Yêu cầu đối với người tình nguyện và tiêu chuẩn lựa chọn như đã nêu ở phần “Qui định chung”.

(2) Chế phẩm đối chứng: Nói chung, có thể chọn các chế phẩm giải phóng có kiểm soát hoặc kéo dài cùng loại và đầu tiên có uy tín trên thị trường trong nước hoặc nước ngoài làm thuốc đối chứng. Nếu thuốc thử là dạng giải phóng có kiểm soát hoặc kéo dài mới được phát minh, thì có thể chọn một chế phẩm qui ước (thuốc bình thường) cùng loại có uy tín trên thị trường trong nước hoặc nước ngoài làm thuốc đối chứng.

(3) Phương pháp thử: Như đã nêu ở phần nghiên cứu đơn liều (Qui định chung)

(4) Trình bày số liệu:

a. Trình bày đầy đủ số liệu nồng độ thuốc trong huyết tương ở các thời điểm của từng cá thể, giá trị trung bình và độ lệch chuẩn, các bảng và biểu đồ của đường biểu diễn.

b. Tính các thông số Cmax, Tmax, AUC_{0-t_n} , $AUC_{0-\infty}$, F, các giá trị trung bình và độ lệch chuẩn. Ngoài ra, nên trình bày thêm một số thông số khác như thời gian lưu trú trung bình (MRT).

(5) Đánh giá tương đương sinh học: Khi so sánh thuốc thử và thuốc đối chứng đều là chế phẩm giải phóng có kiểm soát hoặc tác dụng kéo dài, 2 thuốc được coi là tương đương sinh học với nhau nếu giá trị AUC và Cmax đáp ứng yêu cầu về tương đương sinh học, và giá trị Tmax khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Khi so sánh thuốc thử là chế phẩm giải phóng có kiểm soát hoặc kéo dài với thuốc chứng là chế phẩm qui ước, mức độ hấp thu của 2 thuốc là tương đương sinh học nếu giá trị AUC đáp ứng được những yêu cầu của tương đương sinh học (80,0 % đến 125,0 %) và thuốc thử có khả năng giải phóng có kiểm soát hoặc kéo dài, nếu như giá trị Cmax giảm và Tmax kéo dài hơn thuốc qui ước.

2. Nghiên cứu đa liều, thử chéo 2 giai đoạn: Mục tiêu của nghiên cứu là tìm tốc độ và mức độ hấp thu, khoảng dao động của nồng độ thuốc trong máu ở trạng thái ổn định sau khi uống nhiều liều.

(1) Người tình nguyện và tiêu chuẩn lựa chọn.

Việc lựa chọn người tình nguyện cũng giống như trong nghiên cứu đơn liều, những người đã tham gia nghiên cứu đơn liều cũng có thể tiếp tục được sử dụng trong nghiên cứu đa liều. Số lượng người tình nguyện cần thiết khoảng từ 12 đến 24. Lựa chọn thuốc đối chứng cũng tương tự như trong nghiên cứu đơn liều.

(2) Thiết kế và các bước nghiên cứu.

Thiết kế nghiên cứu chéo, ngẫu nhiên và đa liều với cả thuốc thử và thuốc đối chứng. Đối với thuốc thử, thực hiện nghiên cứu với liều và cách dùng như đã dự định. Các chế phẩm uống ngày 1 lần, nên uống vào buổi sáng sau khi đã nhịn đói ít nhất 10 giờ, sau đó không ăn gì trong vòng 2 giờ đến 4 giờ sau khi uống thuốc. Với các chế phẩm dùng 2 lần trong ngày, liều đầu tiên được cho uống vào buổi sáng sau khi đã nhịn đói ít nhất 10 giờ, sau đó không ăn gì trong vòng 2 giờ đến 4 giờ; liều thứ 2 được uống trước hoặc sau bữa ăn 2 giờ và tiếp tục nhịn trong vòng 2 giờ sau khi uống thuốc. Mỗi liều được uống với 240 ml nước ấm. Nói chung, người tình nguyện có thể uống nước sau khi uống thuốc 1 giờ đến 2 giờ. Khi thuốc đối chứng là chế phẩm qui ước, nên thử theo mức liều và cách dùng thông thường đã sử dụng trên lâm sàng, nhưng

nên chọn mức liều tương đương với liều của thuốc thử dạng giải phóng có kiểm soát hoặc kéo dài.

(3) Thiết kế điểm lấy mẫu máu: Sau khi uống đa liều trong một khoảng thời gian bằng 7 lần thời gian bán thải, cần xác định 3 điểm có nồng độ cực tiểu trong 3 ngày liên tiếp để đảm bảo rằng nồng độ thuốc ở trạng thái ổn định. Nên lấy mẫu máu vào cùng một thời điểm (thường là buổi sáng) của những ngày khác nhau để có thể so sánh được và hạn chế những ảnh hưởng của thời gian tới dược động học. Sau khi đạt đến trạng thái ổn định và trong khoảng thời gian dùng liều cuối cùng, lấy mẫu máu theo thời gian biểu như đã thiết kế trong nghiên cứu đơn liều. Sau đó, phân tích và thiết lập đường biểu diễn nồng độ thuốc - thời gian trong suốt khoảng thời gian đó và tính các thông số dược động học liên quan khác, ví dụ như nồng độ đỉnh, thời gian đạt nồng độ đỉnh, nồng độ thuốc trung bình ở trạng thái cân bằng (C_{av}) và AUCss.

(4) Dữ liệu về dược động học.

a. Báo cáo tất cả các dữ liệu về nồng độ thuốc trong máu của mỗi cá thể, giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của nồng độ thuốc trong máu. Tất cả các số liệu nên trình bày trên các bảng và biểu đồ.

b. Tính các số liệu của từng cá thể: C_{max} , C_{min} , T_{max} , C_{av} , AUCss, giá trị trung bình và độ lệch chuẩn. Giá trị C_{max} và T_{max} thu được từ số liệu thực, không phải giá trị ngoại suy. Thông thường, tính C_{min} từ trung bình của 2 nồng độ cực tiểu: Một là nồng độ của mẫu lấy ở thời điểm trước khi dùng liều cuối cùng, và hai là của mẫu lấy ở thời điểm t . AUCss được tính theo phương pháp hình thang.

Nồng độ thuốc trung bình ở trạng thái cân bằng (C_{av}) có thể được tính như sau:

$$C_{av} = (AUC_{ss})/\tau$$

Trong đó:

AUCss là diện tích dưới đường cong nồng độ thuốc - thời gian từ thời điểm 0 đến thời điểm τ trong suốt khoảng liều ở trạng thái ổn định và τ là khoảng thời gian giữa các lần dùng thuốc.

c. Sinh khả dụng ở trạng thái ổn định:

$$F = (AUC^{ss})_T / (AUC^{ss})_R \times 100 \%$$

$$F = (AUC^{ss})_T \times D_R / (AUC^{ss})_R \times D_T \times 100 \%$$

d. Khoảng dao động của nồng độ thuốc trong máu có thể được tính theo biểu thức:

$$DF = 100 \% \times (C_{max} - C_{min}) / C_{av}$$

Trong đó:

C_{max} là nồng độ đỉnh, thu được từ các số liệu thực, sau khi dùng liều cuối cùng ở trạng thái ổn định và C_{min} là nồng độ cực tiểu ở thời điểm cuối trong

khoảng thời gian dùng liều cuối cùng ở trạng thái cân bằng. Nếu thuốc chứng cũng là thuốc giải phóng chậm hay thuốc tác dụng kéo dài, DF/τ của thuốc thử phải không lớn hơn 143 % giá trị của thuốc chứng.

e. Phân tích thống kê và đánh giá tương đương sinh học: Phương pháp phân tích thống kê và đánh giá tương đương sinh học tương tự như đã trình bày trong nghiên cứu đơn liều của thuốc tác dụng kéo dài, thuốc giải phóng có kiểm soát.

PHỤ LỤC 15**15.1 XÁC ĐỊNH ĐỘ SỐNG CỦA VẮC XIN BCG****Kiểm tra độ sống****Các vật liệu**

Dung dịch Sauton loãng 1/4 được sử dụng để pha loãng vắc xin BCG.

Môi trường nuôi cấy: Lowenstein - Jensen.

Vắc xin BCG mẫu thử và mẫu chuẩn.

Hoàn nguyên và pha loãng vắc xin

Vắc xin BCG được xác định độ sống theo phương pháp sau:

Hoàn nguyên ít nhất 5 mg vắc xin BCG vào 5 ml dung dịch Sauton loãng 1/4 vô khuẩn để tạo hỗn dịch cơ bản chứa 1 mg vắc xin BCG/1 ml. Sau khi hoàn nguyên, hỗn dịch này phải được giữ ở 4 °C trong thời gian tối thiểu 15 phút, sau đó pha theo công thức sau:

- 1) 1 ml hỗn dịch cơ bản + 99 ml dung dịch Sauton loãng 1/4 = 1/100 (I).
- 2) 1 ml hỗn dịch pha loãng I + 99 ml dung dịch Sauton loãng 1/4 = 1/10 000 (II).
- 3) 4 ml hỗn dịch pha loãng II + 4 ml dung dịch Sauton loãng 1/4 = 1/20 000 (III).
- 4) 2 ml hỗn dịch pha loãng II + 6 ml dung dịch Sauton loãng 1/4 = 1/40 000 (IV).

5) 2 ml hỗn dịch pha loãng II + 14 ml dung dịch Sauton loãng 1/4 = 1/80 000 (V).

6) 2 ml hỗn dịch pha loãng II + 30 ml dung dịch Sauton loãng 1/4 = 1/160 000 (VI).

Nuôi cấy

Lắc đều hỗn dịch của mỗi độ pha trong 20 giây, cấy vào môi trường Lowenstein - Jensen 0,1 ml/ống theo trình tự sau:

2 độ pha đầu: Mỗi độ pha loãng cấy lên 5 ống môi trường.

Độ pha thứ 3 cấy lên 10 ống môi trường.

Đối với vắc xin tươi (trước khi đông khô): Cấy lên các ống môi trường Lowenstein - Jensen huyền dịch vắc xin BCG từ 3 độ pha loãng cuối IV, V, VI.

Đối với vắc xin BCG đông khô giữ ở 4 °C: Cấy huyền dịch vắc xin BCG từ 3 độ pha loãng III, IV, V.

Đối với vắc xin BCG đông khô ủ ở 37 °C: Cấy huyền dịch vắc xin BCG từ 3 độ pha loãng II, III, IV.

Các ống môi trường đã được cấy huyền dịch vắc xin BCG ở các độ pha khác nhau như trên sẽ được lắc đều, để khô bề mặt và ủ ở 37 °C trong 28 ngày.

Đếm khuẩn lạc

Các ống môi trường được cấy huyền dịch BCG và ủ ở 37 °C sẽ được đưa ra đếm số khuẩn lạc mọc trên từng ống sau 21 ngày và 28 ngày.

Tính kết quả

Số đơn vị sống trong 1 ml vắc xin được tính theo 1 trong 4 công thức ở Bảng 1:

Bảng 1

Điều kiện xác định	Công thức tính
1. $2\omega \geq \bar{X}_1 + \bar{X}_2 + 2\bar{X}_3$	1. $\frac{d_1}{v} \times \frac{1}{2} \times (\bar{X}_1 + \bar{X}_2 + 2\bar{X}_3)$
2. $\bar{X}_1 + \bar{X}_2 + 2\bar{X}_3 \geq 2\omega \geq \bar{X}_2 + 2\bar{X}_3$	2. $\frac{d_2}{v} \times \frac{\omega \bar{X}_1}{2\omega + \bar{X}_1 - (\bar{X}_2 + 2\bar{X}_3)}$
3. $\bar{X}_2 + 2\bar{X}_3 \geq 2\omega \geq 2\bar{X}_3$	3. $\frac{d_3}{v} \times \frac{\omega \bar{X}_2}{2\omega + \bar{X}_2 - 2\bar{X}_3}$
4. $2\bar{X}_3 \geq 2\omega$	4. $\frac{d_3}{v} \times \bar{X}_3$

Trong đó:

$\bar{X}_1$ là số khuẩn lạc trung bình mọc trên các ống môi trường Lowenstein - Jensen khi cấy huyền dịch BCG ở độ pha thứ 1;

$\bar{X}_2$ là số khuẩn lạc trung bình mọc trên các ống môi trường Lowenstein - Jensen khi cấy huyền dịch BCG ở độ pha thứ 2;

$\bar{X}_3$ là số khuẩn lạc trung bình mọc trên các ống môi trường Lowenstein - Jensen khi cấy huyền dịch BCG ở độ pha thứ 3;

d là độ pha loãng huyền dịch vắc xin BCG;

v là thể tích hỗn dịch cấy trên một ống môi trường Lowenstein - Jensen;

Hằng số ω tương đương với số lượng tối ưu khuẩn lạc có thể đếm được trên một ống môi trường Lowenstein-Jensen.

Kết quả độ sống của mỗi loạt vắc xin BCG có thể được tính theo chương trình phần mềm Whoprogram /BCG/Biofarma.

Tại nhà sản xuất, tiến hành kiểm tra độ sống ở tất cả các loạt vắc xin thành phẩm (bao gồm cả độ sống trước đông khô, sau đông khô và sau khi ủ ổn định nhiệt).

Những loạt vắc xin BCG có độ sống không đảm bảo với giới hạn cho phép ở lần kiểm tra thứ nhất phải nhắc lại thử nghiệm:

Nếu thử nghiệm độ sống lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm có giá trị (valid test), phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số ống môi trường Lowenstein-Jensen gấp đôi so với lần 1.

Nếu thử nghiệm độ sống lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm không có giá trị (invalid test) thì chỉ cần nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số ống môi trường bằng lần 1.

Nếu lần thử nghiệm nhắc lại, độ sống vẫn không đạt thì phải hủy bỏ loạt vắc xin BCG đó.

Kiểm tra độ sống của vắc xin BCG phải tiến hành song song với vắc xin BCG mẫu chuẩn để kiểm tra chất lượng môi trường dùng cho thử nghiệm độ sống. Độ sống của vắc xin BCG mẫu chuẩn trong mỗi thử nghiệm phải ổn định và nằm trong giới hạn giá trị trung bình $\pm 2SD$.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Đối với vắc xin BCG phòng bệnh lao, giới hạn độ sống cho phép là từ 1 triệu đến 6 triệu đơn vị sống trong 1 mg vắc xin (1×10^6 đvs/mg đến 6×10^6 đvs/mg vắc xin BCG).

Kiểm tra tính ổn định nhiệt

Số đơn vị sống của vắc xin BCG sau khi ủ ở 37 °C trong 28 ngày phải đạt ít nhất là 20 % so với mẫu ủ ở 4 °C trong 28 ngày.

Các vật liệu

Dung dịch Sauton loãng 1/4 được sử dụng để pha loãng vắc xin BCG.

Môi trường nuôi cấy: Lowenstein-Jensen.

Vắc xin BCG mẫu thử và mẫu chuẩn.

Trước khi kiểm tra tính ổn định nhiệt, vắc xin BCG đông khô mẫu thử phải được ủ ở các nhiệt độ khác nhau trong 28 ngày như dưới đây:

Dạng 1 mg/ống: Ủ 10 ống ở 4 °C trong 28 ngày và 10 ống ở 37 °C trong 28 ngày.

Dạng 0,5 mg/ống: Ủ 20 ống ở 4 °C trong 28 ngày và 20 ống ở 37 °C trong 28 ngày.

Tiến hành

Kiểm tra tính ổn định nhiệt của vắc xin BCG bằng cách đếm độ sống của loạt vắc xin này sau khi ủ ở 4 °C và 37 °C trong 28 ngày. Quy trình đếm độ sống được thực hiện như ở phần Kiểm tra độ sống. Tính tỷ lệ % số đơn vị sống BCG mọc ở 37 °C so với ở 4 °C, theo công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ \% ổn định nhiệt} = \frac{A}{B} \times 100 (\%)$$

Trong đó:

A là số ĐVS/mg vắc xin BCG ở 37 °C trong 28 ngày;

B là số ĐVS/mg vắc xin BCG ở 4 °C trong 28 ngày.

ĐVS là đơn vị sống.

Những loạt vắc xin BCG có tỷ lệ % ổn định nhiệt không đạt yêu cầu ở lần kiểm tra thứ nhất phải nhắc lại thử nghiệm:

Nếu thử nghiệm tỷ lệ % ổn định nhiệt lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm có giá trị, phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số ống môi trường Lowenstein-Jensen gấp đôi so với lần 1.

Nếu thử nghiệm tỷ lệ % ổn định nhiệt lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm không có giá trị thì chỉ cần nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số ống môi trường bằng lần 1.

Nếu lần thử nghiệm nhắc lại, tỷ lệ % ổn định nhiệt vẫn không đạt thì phải hủy bỏ loạt vắc xin BCG đó.

Kiểm tra tỷ lệ % ổn định nhiệt của vắc xin BCG phải tiến hành song song với vắc xin BCG mẫu chuẩn để kiểm tra chất lượng môi trường dùng cho thử nghiệm độ sống. Độ sống của vắc xin BCG mẫu chuẩn trong mỗi thử nghiệm phải ổn định và nằm trong giới hạn giá trị trung bình $\pm 2SD$.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Tỷ lệ % số đơn vị sống BCG mọc ở 37 °C so với ở 4 °C phải không được thấp hơn 20 %.

15.2 XÁC ĐỊNH ĐỘ CHÂN KHÔNG CỦA VẮC XIN BCG

Vắc xin BCG được đông khô và hàn kín trong điều kiện chân không (0,001 mmHg) và phải được kiểm tra độ chân không bằng thiết bị Tesla vacuum.

Kiểm tra độ chân không trong các ống vắc xin BCG đông khô không sớm hơn 2 tháng sau khi hàn ống. Khi kiểm tra chân không, được phép dùng những ống vắc xin phát ra ánh sáng màu tím nhạt đến trắng xanh và loại bỏ những ống vắc xin không phát ra ánh sáng hoặc phát ra ánh sáng màu đỏ hình tên lửa. Trước khi phân phát, vắc xin phải được kiểm tra lại về độ chân không (do đơn vị sản xuất kiểm tra). Nếu phát hiện thấy quá 5 % số ống không còn chân không thì lô vắc xin này phải lưu lại thêm 1 tháng nữa, sau đó kiểm tra chân không lại. Nếu vẫn có hơn 1 % số ống không đạt chân không thì lô vắc xin đó phải bỏ đi. Những số liệu kiểm tra này phải ghi vào hồ sơ của lô vắc xin.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Loạt vắc xin BCG đông khô được coi là đạt độ chân không khi có không ít hơn 95 % tổng số ống đạt tiêu chuẩn về độ chân không.

15.3 XÁC ĐỊNH ĐỘ PHÂN TÁN CỦA VẮC XIN BCG

Nguyên lý

Vắc xin BCG đông khô sau khi được hoàn nguyên với nước pha thuốc tiêm để kiểm tra độ phân tán của vắc xin này.

Nếu vắc xin có độ phân tán kém, tạo cụm nhiều sẽ có nguy cơ gây sưng hạch hoặc sưng hạch mũ cho trẻ được tiêm vắc xin.

Tiến hành

Vắc xin BCG đông khô được hoàn nguyên trong nước muối sinh lý (pha từ nước để pha thuốc tiêm) để có đậm độ 1 mg/ml.

Sử dụng nước muối sinh lý dùng để hoàn nguyên vắc xin BCG làm dung dịch mẫu trắng để chuẩn máy đo.

Huyền dịch vắc xin được lắc kỹ trước khi đo mật độ quang (OD).

Đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) của hỗn dịch vắc xin ở 2 bước sóng: 434 nm và 630 nm.

Tính kết quả

Sau khi đo được OD của huyền dịch vắc xin BCG ở 2 bước sóng nêu trên, tính kết quả theo công thức:

$$\text{Độ phân tán} = \frac{\text{Lg OD}_1 - \text{Lg OD}_2}{\text{Lg } \lambda_2 - \text{Lg } \lambda_1}$$

Trong đó:

OD₁ là mật độ quang của hỗn dịch vi khuẩn đo được ở bước sóng 434 nm (lọc màu xanh lam);

OD₂ là mật độ quang của hỗn dịch vi khuẩn đo được ở bước sóng 630 nm (lọc màu đỏ).

Ở công thức này mẫu số (Lgλ₂ - Lgλ₁) luôn là một hằng số và bằng 0,1618.

Nếu loạt vắc xin BCG đông khô không đạt yêu cầu thì phải nhắc lại thử nghiệm:

Nếu thử nghiệm lần 1 có giá trị (valid test) thì phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu thử nghiệm gấp đôi so với thử nghiệm lần 1.

Nếu thử nghiệm lần 1 không có giá trị (invalid test) thì chỉ cần nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu thử nghiệm bằng thử nghiệm lần 1.

Kết quả của lần thử nghiệm nhắc lại nếu không đạt yêu cầu thì loạt vắc xin BCG đông khô đó coi như không đạt yêu cầu về độ phân tán và phải hủy bỏ; nếu đạt yêu cầu thì loạt vắc xin BCG đông khô đó coi như đạt yêu cầu về độ phân tán.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Độ phân tán của vắc xin BCG cho phép là ≥ 0,9.

15.4 XÁC ĐỊNH TÍNH AN TOÀN VẮC XIN DTWP HẤP PHỤ

An toàn đặc hiệu

Tính an toàn đặc hiệu của vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà toàn tế bào được kiểm tra trên mẫu bán thành phẩm cuối cùng hay vắc xin thành phẩm khi cần thiết và được tiến hành như sau:

An toàn đặc hiệu đối với thành phần bạch hầu và uốn ván

Chọn 5 chuột lang khỏe mạnh, cùng giới (nếu khác giới phải nhốt riêng lồng), có trọng lượng 250 g đến 350 g, chưa sử dụng vào bất cứ thử nghiệm nào trước đó; tiêm dưới da cho mỗi chuột lang ít nhất 5 liều đơn vắc xin cho người (liều vắc xin như ghi trên nhãn). Theo dõi chuột hàng ngày và cân trọng lượng chuột hàng tuần trong 3 tuần (đối với thành phần uốn ván) và 6 tuần (đối với thành phần bạch hầu).

Nếu có chuột chết phải mổ để kiểm tra phủ tạng về dấu hiệu nhiễm độc bạch hầu (tuyến thượng thận đỏ).

Nếu có hơn một chuột lang chết trong thử nghiệm lần 1, phải nhắc lại thử nghiệm; nếu lần thử nghiệm nhắc lại không có chuột nào có biểu hiện nhiễm độc do độc tố bạch hầu hay uốn ván và có ít nhất 2/3 số chuột thử nghiệm sống sót sau khoảng thời gian theo dõi như quy định (3 tuần đối với vắc xin uốn ván và 6 tuần đối với vắc xin bạch hầu) thì loạt vắc xin DTWP đó đạt yêu cầu về an toàn đặc hiệu đối với thành phần bạch hầu và uốn ván.

Nếu có hơn một chuột lang bị chết vì những nguyên nhân không đặc hiệu và thử nghiệm không có giá trị (invalid test), phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng động vật thí nghiệm và mẫu thử bằng lần 1; nếu vẫn có hơn một chuột lang chết ở lần thử nghiệm thứ 2 thì loạt vắc xin không đạt về an toàn đặc hiệu đối với thành phần bạch hầu và uốn ván, phải hủy bỏ.

Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm có giá trị (valid test), phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu thử và số lượng chuột lang gấp đôi. Nếu thử nghiệm nhắc lại vẫn có quá 1/3 số chuột chết do bất kỳ lý do nào thì loạt vắc xin DTWP này sẽ phải hủy bỏ.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Vắc xin đạt yêu cầu nếu không có chuột lang nào có dấu hiệu liệt do uốn ván hoặc triệu chứng nhiễm độc bạch hầu và ít nhất 80 % chuột sống sót, khỏe mạnh và lên cân trong thời gian 6 tuần (đối với thành phần bạch hầu) hoặc 3 tuần (đối với thành phần uốn ván).

An toàn đặc hiệu đối với thành phần ho gà toàn tế bào (wP)

Dùng 20 chuột nhắt trắng có trọng lượng 14 g đến 16 g, cùng giới (nếu có cả 2 giới, cần phân chia đều trong các nhóm) cho mỗi mẫu vắc xin thử và cho nhóm chứng.

Chuột được ăn uống đầy đủ trước khi tiêm 1 giờ và trong suốt thời gian thí nghiệm. Tổng trọng lượng của từng nhóm chuột được xác định ngay trước lúc tiêm. Mỗi chuột được tiêm vào ổ bụng 0,5 ml dung dịch chứa tối thiểu nửa liều đơn vắc xin cho người. Nhóm chứng được tiêm 0,5 ml nước muối sinh lý (tốt nhất chứa cùng hàm lượng chất bảo quản như có trong dung dịch tiêm cho nhóm thí nghiệm). Tổng trọng

lượng các nhóm chuột được xác định lại vào 72 giờ và 7 ngày sau tiêm.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Loại vắc xin đạt yêu cầu nếu đạt cả 3 tiêu chuẩn sau:

- Sau 72 giờ tổng trọng lượng chuột của mỗi nhóm không ít hơn trước tiêm.
- Sau 7 ngày trọng lượng trung bình mỗi chuột không ít hơn 60 % so với nhóm chứng.
- Chuột chết không quá 5 %.

Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt một trong 3 tiêu chuẩn nêu trên phải nhắc lại thử nghiệm:

Nếu thử nghiệm lần 1 không có giá trị (invalid test): Chỉ cần nhắc lại thử nghiệm với số lượng chuột và số lượng mẫu bằng lần 1.

Nếu thử nghiệm lần 1 có giá trị (valid test): Phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng chuột nhất trắng và số lượng mẫu gấp đôi so với lần 1.

Kết quả của lần kiểm tra nhắc lại, nếu đạt yêu cầu 3 tiêu chuẩn nêu trên và giá trị trung bình của 2 lần thử nghiệm (về % tăng trọng chuột của nhóm vắc xin thử nghiệm so với nhóm chứng sau 7 ngày theo dõi) đạt yêu cầu thì loại vắc xin đó mới được coi là đạt yêu cầu về an toàn đặc hiệu ho gà. Nếu ở lần kiểm tra nhắc lại không đạt yêu cầu thì loại vắc xin đó không đạt yêu cầu an toàn đặc hiệu thành phần ho gà và phải bị hủy bỏ.

An toàn không đặc hiệu (Độc tính bất thường)

Thử nghiệm được tiến hành trên chuột nhất trắng và chuột lang khỏe mạnh không tiêm bất cứ gì trước khi thử nghiệm. Tiêm vào ổ bụng cho 5 chuột nhất trắng có trọng lượng 17 g/con đến 22 g/con, mỗi con một nửa liều tiêm cho người; 2 chuột lang có trọng lượng 250 g/con đến 350 g/con, mỗi con một liều tiêm cho người nhưng không quá 1 ml/con.

Theo dõi tình trạng sức khỏe và cân trọng lượng chuột hàng ngày.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Vắc xin được coi là không có độc tính bất thường nếu tất cả các động vật thí nghiệm sống khỏe mạnh và lên cân trong thời gian ít nhất 7 ngày và không có dấu hiệu nhiễm độc.

Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt yêu cầu nêu trên, phải nhắc lại thử nghiệm. Thử nghiệm nhắc lại nếu đạt yêu cầu thì loại vắc xin đó được coi là đạt an toàn không đặc hiệu; nếu không đạt yêu cầu thì loại vắc xin đó bị coi là không đạt an toàn không đặc hiệu và phải hủy bỏ.

Đối với thử nghiệm nhắc lại:

* Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm có giá trị: phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số lượng chuột gấp đôi lần 1.

* Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm không có giá trị: chỉ cần nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số lượng chuột bằng lần 1.

15.5 XÁC ĐỊNH ĐẬM ĐỘ VI KHUẨN HO GÀ

Nguyên tắc

Thực tế một hỗn dịch vi khuẩn ho gà có đậm độ 10 tỷ vi khuẩn/ml tương ứng với 10 IOU (đơn vị đo độ đục quốc tế) khi nhìn bằng mắt thường.

Có thể sử dụng bộ so độ đục chuẩn quốc tế của WHO để so bằng mắt thường hoặc chuẩn trên máy quang phổ kế khi xác định đậm độ của hỗn dịch *B. pertussis* 18323 trong thử nghiệm công hiệu vắc xin ho gà.

Cách tiến hành

Trong quá trình sản xuất vắc xin ho gà, mỗi lần gặt sinh khối cần xác định đậm độ vi khuẩn của nước cốt ho gà. Độ đục nước cốt ho gà và nước cốt ho gà cô đặc được xác định bằng cách so sánh với ống mẫu chuẩn quốc tế hoặc quốc gia và quan sát bằng mắt thường hoặc đo trên máy quang phổ kế (không được muộn hơn hai tuần sau khi gặt và trước khi huyền dịch vi khuẩn được đưa vào bất kỳ quy trình pha chế nào tiếp theo).

Pha loãng nước cốt trong nước muối sinh lý cho đến khi soi bằng mắt thường thấy tương đương với ống chuẩn 10 IOU.

Tính độ đục của mẫu thử bằng cách nhân với số lần pha loãng.

Có thể đo độ đục của huyền dịch vi khuẩn ho gà trên máy đo quang phổ ở bước sóng 560 nm. Đậm độ nước cốt ho gà được sử dụng làm cơ sở để tính toán khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Thành phần ho gà trong vắc xin DTP hỗn hợp không vượt quá 20 đơn vị độ đục quốc tế (IOU) trong một liều đơn vắc xin cho người. Tỷ lệ thành phần các chủng *B. pertussis* 18323 không được thay đổi khi hỗn hợp vắc xin, phải đăng ký rõ trong hồ sơ và được sự chấp thuận của cơ quan Kiểm định quốc gia.

15.6 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TWEEN 20 TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý

Dựa vào phản ứng của polyethoxylat trong thành phần của Tween 20 với amoni cobaltothiocyanat tạo thành hợp chất màu xanh lơ tan trong dicloromethan.

Tiến hành

Mẫu thử được điều chỉnh bằng nước cất để có nồng độ protein khoảng 100 µg/ml. Hút 1 ml mẫu thử vào ống nghiệm, thêm 5 ml *ethanol* 95 % (TT), ly tâm 3500 vòng/phút trong 20 phút ở 20 °C. Chuyển phần nước sang ống nghiệm khác, rửa tủa bằng 1 ml *ethanol* 95 % (TT), chuyển nốt nước rửa tủa vào ống nghiệm. Đun cách thủy phần nước thu được ở 80 °C cho đến khi còn lại khoảng 0,5 ml; thêm 1 ml *nước cất* vào ống nghiệm.

Hút dung dịch Tween 20 chuẩn 1 mg/ml vào các ống nghiệm lần lượt theo thể tích 10 µl; 25 µl; 50 µl; 75 µl; 100 µl, thêm nước cất vừa đủ 1 ml.

Mẫu trắng là 1 ml nước cất.

Thêm 2 ml dicloromethan (TT) vào mỗi ống nghiệm đựng mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử. Thêm tiếp 3 ml dung dịch amoni cobaltothiocyanat, lắc kỹ, để yên ở nhiệt độ phòng trong 90 phút. Hút bỏ phần nước nổi bằng máy hút chân không, đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) của lớp dicloromethan màu xanh lơ phía dưới ở bước sóng 620 nm.

Dựng đường chuẩn, từ đó tính ra hàm lượng Tween 20 trong mẫu thử.

Đơn vị tính: µg/100 µg protein.

Cách pha các dung dịch:

Dung dịch amoni cobaltothiocyanat: Hòa tan 6,0 g cobalt nitrat (TT) và 40 g amoni thiocyanat (TT) trong nước cất, thêm nước cất vừa đủ 200 ml, lọc qua giấy lọc.

Dung dịch Tween 20 chuẩn 10 mg/ml: Cân 1 g Tween 20 vào bình định mức 100 ml, thêm nước cất vừa đủ, lắc đều. Pha loãng bằng nước cất 10 lần trước khi dùng.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Tùy từng loại vắc xin và sinh phẩm.

Hàm lượng Tween 20 có trong bán thành phẩm viêm gan B không lớn hơn 50 µg/100 µg protein.

15.7 XÁC ĐỊNH TÍNH VÔ KHUẨN CHO VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Quy định chung

Một trong những thử nghiệm quan trọng được Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) khuyến cáo để kiểm soát chất lượng vắc xin và sinh phẩm y tế là thử nghiệm vô trùng. Nhằm phát hiện tác nhân ngoại lai là các vi sinh vật sống nhiễm vào sản phẩm, thử nghiệm vô trùng không chỉ thực hiện ở giai đoạn thành phẩm mà phải thực hiện ở nhiều giai đoạn trong quá trình sản xuất.

Theo khuyến cáo của WHO, thử nghiệm vô trùng phải thực hiện dưới điều kiện hốt Biosafety Cabinet class II đạt cấp độ A, trong nền phòng sạch cấp độ B. Phòng sạch phải được kiểm soát áp suất, nhiệt độ, độ ẩm, tốc độ trao đổi khí và giám sát vi sinh. Nhân viên thực hiện thử nghiệm vô khuẩn phải là người được đào tạo, có hiểu biết và kinh nghiệm về thực hành, được trang bị phương tiện bảo hộ vô trùng và tuân thủ mọi quy trình ra vào khu vực sạch.

Môi trường dùng cho thử nghiệm vô khuẩn

Gồm 2 loại môi trường Thioglycolat và Soybean Casein Digest (SCD) dạng nước. Môi trường thioglycolat được dùng để phát hiện vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí. Môi trường Soybean Casein Digest dùng để phát hiện vi

khuẩn hiếu khí và nấm. Có thể dùng môi trường khác thay thế nếu những môi trường này đã được thẩm định.

Lấy mẫu

Mẫu để thử vô trùng phải mang tính đại diện cho toàn bộ lô sản xuất bao gồm các mẫu lấy tại những phần có nguy cơ bị nhiễm cao nhất. Ít nhất ở giai đoạn bán thành phẩm cuối cùng và thành phẩm phải lấy mẫu để kiểm tra vô trùng.

Phương pháp cấy trực tiếp để phát hiện nhiễm vi khuẩn và nấm

Trước khi kiểm tra vô trùng cần phải xác định xem vắc xin, sinh phẩm đó có chứa hay không chứa chất bảo quản có khả năng diệt hoặc ức chế sự phát triển của vi sinh vật. Nếu có, cần phải áp dụng biện pháp thích hợp chẳng hạn như tăng thể tích môi trường nuôi cấy hoặc lọc qua màng lọc.

Mẫu thử cần được khử trùng sơ bộ bên ngoài bằng cách xịt ethanol 70 % đã được lọc vô trùng, trước khi chuyển vào phòng sạch.

Ngay trước khi thực hiện thao tác cấy vô trùng, các mẫu thử cần được khử trùng lại.

Với vắc xin sinh phẩm đóng trong ống, phải dùng cưa, gạc vô trùng để cưa và bẻ ống mẫu thử.

Với vắc xin, sinh phẩm ở dạng đông khô, phải hồi chính với dung dịch đi kèm trước khi cấy vào môi trường.

Riêng đối với mẫu vắc xin BCG đông khô (dạng tiêm) trước khi khử trùng sơ bộ, cần kiểm tra độ chân không để loại bỏ những ống không đạt tiêu chuẩn.

Với sinh phẩm là vắc xin phối hợp gồm nhiều thành phần (ví dụ: DTP- HB- IPV hoặc DTP- HB- IPV - Hib) để kiểm tra tính vô khuẩn của sinh phẩm phải hỗn hợp các thành phần vắc xin lại với nhau ngay trước khi cấy vào môi trường.

Với sản phẩm bột khô đóng dạng viên nén trước khi cấy phải hòa tan mẫu thử vào nước muối sinh lý hoặc nước cất vô khuẩn. Sau đó cấy sang môi trường Thioglycolat và Soybean Casein Digest. Lượng môi trường đóng trong mỗi ống được quyết định bởi cơ quan kiểm định quốc gia, sau khi đã qua thử nghiệm thẩm định. Số lượng các mẫu được cấy, nhiệt độ và thời gian theo dõi tương tự như với vắc xin sinh phẩm dạng nước. Sau khi cấy, cần kiểm chứng lại dung dịch nước muối sinh lý hoặc nước cất bằng cách lấy 4 ml, cấy 1 ml (cho mỗi ống) vào 2 ống Thioglycolat và 2 ống SCD. Các ống Thioglycolat kiểm chứng được ủ ở nhiệt độ 30 °C đến 35 °C, còn các ống SCD ủ ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C như với môi trường đã cấy mẫu kiểm tra.

Cách cấy: Lắc kỹ mẫu thử trước khi cấy vào môi trường, dùng quả bóp cao su hoặc pipet aid có cắm pipet Pasteur vô trùng để hút mẫu thử. Đẩy hết khí thừa ở đầu pipet. Đặt pipet xuống tận đáy ống môi

trường, vừa phối hợp động tác bơm mẫu thử vừa kéo pipet ra khỏi môi trường thử.

Với vắc xin, sinh phẩm đông sẵn trong bơm tiêm thì bơm trực tiếp sản phẩm đó vào môi trường nuôi cấy.

Mỗi loạt môi trường được pha chế dùng trong thử nghiệm vô khuẩn đều phải kiểm tra chất lượng về tính vô trùng, tính tăng sinh, khả năng trung hòa chất ức chế.

Kiểm tra vô khuẩn bán thành phẩm cuối cùng

Mỗi mẫu bán thành phẩm lấy ít nhất 10 ml, cấy vào hai loại môi trường Thioglycolat và SCD, mỗi ống môi trường 1 ml cho đến khi hết. Sau khi cấy xong các ống môi trường Thioglycolat được chia ra để ủ ở 2 nhiệt độ 30 °C đến 35 °C và 20 °C đến 25 °C, các ống SCD ủ ở 20 °C đến 25 °C trong thời gian 14 ngày.

Kiểm tra vô trùng thành phẩm

Lượng vắc xin, sinh phẩm có trong 1 lọ	Lượng vắc xin, sinh phẩm được lấy để cấy	Lượng vắc xin, sinh phẩm cấy vào mỗi ống môi trường
Ít hơn 1 ml	Toàn bộ	Toàn bộ
Từ 1 ml đến < 2 ml	1 ml	1 ml
Từ 2 ml đến < 4 ml	½ thể tích	1 ml
Từ ≥ 4 ml đến < 20 ml	2 ml	1 ml
Từ ≥ 20 ml đến ≤ 100 ml	10 % thể tích	1 ml
>100 ml	10 % hoặc 50 ml	1 ml

Lưu ý:

Thể tích môi trường phải phù hợp để đảm bảo khi có mặt mẫu thử không ảnh hưởng đến dinh dưỡng của môi trường.

Cấy chuyển

Đối với các sản phẩm không làm đục môi trường (globulin miễn dịch, dị nguyên gây bệnh và không gây bệnh, các kháng nguyên, các dung dịch hồi chỉnh v.v.), các ống môi trường sẽ được theo dõi hàng ngày trong vòng 14 ngày.

Đối với các sản phẩm làm đục môi trường nuôi cấy (những sản phẩm có chất hấp phụ, sinh khối hoặc chứa tế bào nano) sau khi cấy 3 ngày đến 7 ngày phải cấy chuyển ít nhất 1 ml sang ống môi trường mới tương ứng theo thứ tự và ủ tiếp ở nhiệt độ như quy định. Hàng ngày theo dõi và ghi chép. Đọc kết quả cuối cùng vào ngày thứ 14.

Lưu ý:

Đối với vắc xin virus sản xuất trên nuôi tế bào hoặc mô động vật thí nghiệm, ngoài thử nghiệm vô trùng để phát hiện sự nhiễm khuẩn và nấm đã nêu trên cần phải áp dụng phương pháp kiểm tra đặc biệt để phát hiện sự có mặt của *Mycoplasma* và virus ngoại lai. Phương

pháp kiểm tra này do cơ quan Kiểm định quốc gia quy định.

Đối với vắc xin bất hoạt cần kiểm tra sự bất hoạt hoàn toàn của các vi sinh vật hoặc sự có mặt của vi sinh vật ngoại lai theo phương pháp đặc biệt theo tiêu chuẩn riêng cho từng loại chế phẩm. Đọc kết quả cuối cùng bằng cách quan sát đại thể, trong trường hợp có nhiễm khuẩn phải kiểm tra vi thể toàn bộ nuôi cấy trong 14 ngày theo dõi.

Đánh giá

Sản phẩm được coi là vô trùng khi không có một ống môi trường nào bị nhiễm.

Trường hợp bị nhiễm phải làm đồ phiến nhuộm Gram soi kính hiển vi để phát hiện vi khuẩn Gram (+), Gram (-) hoặc nấm và nhắc lại thử nghiệm với mẫu lưu.

Nếu không bị nhiễm ở lần kiểm tra thứ hai thì sản phẩm được coi là vô trùng. Nếu bị nhiễm ở lần kiểm tra thứ hai, dù chỉ 1 ống có cùng loại vi sinh vật như lần thứ nhất thì loạt sản phẩm đó không đạt yêu cầu về vô trùng, phải hủy bỏ. Nếu kết quả nhuộm soi ở lần kiểm tra thứ nhất và thứ 2 không cùng loại vi sinh vật, phải tiến hành kiểm tra lần thứ 3. Nếu ở lần kiểm tra thứ 3 kết quả không bị nhiễm, chế phẩm được coi là vô trùng. Nếu lần thứ 3 bị nhiễm dù chỉ một ống, cho dù bất cứ loại vi sinh vật nào thì sản phẩm coi như không đạt yêu cầu về vô trùng.

Lập hồ sơ

Người thực hiện phải ghi chép đầy đủ, chính xác toàn bộ quá trình tiến hành thử nghiệm bao gồm: Giám sát môi trường làm việc: Áp suất, nhiệt độ, độ ẩm, tốc độ trao đổi khí và giám sát vi sinh.

Mẫu thử: Tên, số loạt, ngày sản xuất, hạn dùng, tên nhà sản xuất.

Môi trường nuôi cấy: Tên, số loạt, ngày pha chế, số lượng ống sử dụng, thể tích môi trường trong một ống. Tên người thực hiện, ngày bắt đầu thử nghiệm, lượng mẫu thử cấy vào mỗi ống môi trường, theo dõi và giám sát: Nhiệt độ, thời gian trong suốt quá trình thử nghiệm, ngày kết thúc (ngày đọc kết quả), kết luận.

Những số liệu này phải được lưu giữ cho đến khi hết hạn sử dụng của loạt sản phẩm đó và phải sẵn sàng cung cấp đầy đủ cho cơ quan Kiểm định Quốc gia khi cần thanh tra.

15.8 MÔI TRƯỜNG DÙNG ĐỂ PHÁT HIỆN VI KHUẨN HIẾU KHÍ, KỶ KHÍ VÀ NẤM

Quy định chung

Môi trường nuôi cấy dùng để kiểm tra vô khuẩn phải do cơ quan Kiểm định Quốc gia quy định. Môi trường này phải bảo đảm sự phát triển tốt cho phần lớn các

loại vi sinh vật hiếu khí, kỵ khí thường có trong không khí của cơ sở sản xuất.

Để kiểm tra tính vô khuẩn của các sinh phẩm phải dùng môi trường thioglycolat dạng nước. Thành phần của môi trường được mô tả trong phần tiếp theo. Mỗi loại môi trường thioglycolat mới được điều chế phải được kiểm tra về tính vô khuẩn, khả năng làm cho vi sinh vật phát triển (dinh dưỡng) và tính trung hòa.

Để kiểm tra tính vô khuẩn của các chế phẩm không có chất bảo quản thimerosal, môi trường phải được dùng trong vòng 3 tuần kể từ ngày pha chế. Môi trường sau khi sản xuất phải bảo quản ở nhiệt độ phòng và tránh ánh sáng.

Để kiểm tra sinh phẩm có chứa thimerosal có thể dùng môi trường thioglycolat pha mới, môi trường phải được dùng trong vòng 7 ngày đến 10 ngày, kể từ ngày sản xuất.

Thời hạn sử dụng cụ thể của môi trường thioglycolat được xác định bằng cách kiểm tra tính chất trung hòa của môi trường sau khi pha chế.

Thành phần và cách pha chế môi trường Thioglycolat lỏng

L - Cystin	0,50g
Natri clorid	2,50g
Glucose ($C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$)	5,50 g
Thạch (agar)	0,75 g
Chiết xuất men (tan trong nước)	5,00 g
Casein thủy phân bằng men tụy	15,00 g
Nước cất	1000,0 ml
Thioglycolat natri	0,50 g
Resazurin natri (dung dịch 0,01 % mới pha)	1,00 ml
pH cuối cùng 7,0 đến 7,2 (sau khi hấp ở 121 °C từ 18 phút đến 20 phút)	

Cách pha chế:

Cho lần lượt 6 thành phần đầu vào cốc. Khuấy trong 1 ít nước nóng, cho phần nước còn lại, sau đó đun cách thủy cốc đựng môi trường, chú ý để cho L-cystin được tan hoàn toàn. Cho thioglycolat natri, tiếp đó cho dung dịch natri hydroxyd 1 N vừa đủ sao cho khi hấp pH phải là 7,0 đến 7,2. Đun nóng lại, không được đun sôi, nếu cần, lọc qua giấy lọc ướt, sau đó cho thêm Resazurin natri. Phân chia vào ống nghiệm thích hợp tùy theo yêu cầu. Hấp ở 121 °C trong thời gian từ 18 phút đến 20 phút. Khi lấy từ lò hấp ướt ra, làm lạnh ngay dưới vòi nước lạnh cho tới 25 °C. Bảo quản ở nhiệt độ từ 20 °C đến 30 °C, tránh ánh sáng. Nếu quá 1/3 phần trên ống môi trường đổi thành màu hồng, không nên dùng hoặc nếu dùng phải hấp hơi nước lại một lần nữa. Môi trường bảo quản quá 3 tuần không dùng được.

Có thể dùng môi trường bột của các hãng thương mại để pha chế môi trường này, vừa đảm bảo chất lượng vừa pha chế rất đơn giản.

Yêu cầu về chất lượng của môi trường nuôi cấy

Môi trường thioglycolat sau khi điều chế phải đạt các yêu cầu sau:

Tính vô khuẩn: Phải vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Tính chất phát triển: Phải bảo đảm cho chủng *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Clostridium sporogenes* ATCC 11437 và *Candida albicans* ATCC 10231 phát triển tốt với liều gây nhiễm là 10 đến 100 CFU/0,1 ml chủng/ống môi trường.

Tính chất trung hòa: Phải bảo đảm cho các chủng vi sinh vật trên phát triển tốt với liều gây nhiễm là 10 đến 100 CFU/0,1 ml chủng/ống môi trường (trong môi trường có thimerosal ở nồng độ 1/10 000 và không thấp hơn độ pha 1/100 000).

15.9 PHÁT HIỆN MYCOBACTERIA GÂY BỆNH

(An toàn đặc hiệu vắc xin BCG)

Thử nghiệm “Phát hiện *Mycobacteria* gây bệnh” được kiểm tra trên mẫu bán thành phẩm hoặc mẫu thành phẩm vắc xin BCG nếu cần thiết.

Dùng ít nhất 6 chuột lang cùng giới (nếu là chuột cái phải không được có thai) có phản ứng âm tính với tuberculin, trọng lượng 250 g/con đến 400 g/con.

Tiêm dưới da cho mỗi chuột một liều vắc xin tương đương với ít nhất 50 liều tiêm trong da cho người. Sau khi tiêm vắc xin, phải theo dõi chuột lang ít nhất là 6 tuần. Cuối thời kỳ theo dõi, tất cả chuột lang đều phải được mổ, kiểm tra đại thể các phủ tạng xem có các dấu hiệu của bệnh lao tiến triển không. Mặt khác, trong thời kỳ theo dõi nếu có chuột nào chết cũng phải mổ kiểm tra như trên. Nếu sau 6 tuần theo dõi các chuột đều khỏe mạnh, tăng cân; không có biểu hiện bệnh lao tiến triển và ít nhất có 2/3 số chuột sống sót cho đến hết thời gian theo dõi thì loạt vắc xin BCG đó được coi là không bị nhiễm *Mycobacteria* gây bệnh.

Trong vòng 42 ngày theo dõi, nếu có hơn 1/3 số chuột lang thử nghiệm chết nhưng xác định không phải chết do lao thì thử nghiệm được lập lại. Nếu:

Lần thử nghiệm thứ nhất không đạt yêu cầu và không có giá trị (invalid test): Thử nghiệm nhắc lại chỉ cần tiến hành với ít nhất 6 chuột lang khác.

Lần thử nghiệm thứ nhất không đạt yêu cầu và có giá trị (valid test): Thử nghiệm phải được nhắc lại với số lượng mẫu và số lượng chuột gấp đôi.

Nếu trong lần thử nghiệm thứ 2 vẫn có hơn 1/3 số chuột lang chết (kể cả được xác định chuột chết không phải do lao) thì loạt vắc xin BCG đó coi như không an toàn và phải xem xét lại nguồn cung cấp chuột, hoặc/ và kiểm tra quy trình sản xuất với sự xác nhận của cơ quan Kiểm định Quốc gia.

Nếu trong lần thử nghiệm nhắc lại các chuột đều khỏe mạnh, tăng cân, không có biểu hiện bệnh lao tiến triển và ít nhất có 2/3 số chuột sống sót cho đến hết thời

gian theo dõi thì loạt vắc xin BCG đó được coi là không bị nhiễm *Mycobacteria* gây bệnh và đạt yêu cầu về tính an toàn đặc hiệu.

Nếu phát hiện thấy chuột có biểu hiện của bệnh lao tiến triển thì loạt vắc xin đó phải hủy bỏ và phải đình chỉ sản xuất các loạt vắc xin tiếp theo. Toàn bộ vắc xin trong kho phải giữ lại để tiến hành thanh tra và tìm ra nguyên nhân. Việc sản xuất chỉ được tiếp tục khi có sự chấp thuận của cơ quan Kiểm định Quốc gia.

15.10 THỬ NGHIỆM NHẬN DẠNG HUYẾT THANH MIỄN DỊCH

Mục đích của thử nghiệm nhận dạng huyết thanh miễn dịch là nhằm khẳng định huyết thanh thử nghiệm chỉ chứa protein từ loài động vật đăng kí trong sản xuất. Có thể tiến hành theo 1 trong 2 kỹ thuật sau:

Kỹ thuật khuếch tán miễn dịch (Ouchterlony)

Nguyên lý

Kỹ thuật này dựa trên nguyên lý khuếch tán kép tự do của kháng nguyên và kháng thể từ các giếng riêng biệt được tạo trong gel agarose 1 % vào môi trường và tạo thành cung tủa do phản ứng đặc hiệu của chúng.

Vật liệu và thiết bị

Phiến kính.

Agarose 1 % trong đệm phosphat pH 7,4.

Hộp âm.

Huyết thanh miễn dịch thử nghiệm.

Huyết thanh kháng loài.

Dung dịch nhuộm: Coomassie blue 0,025 %.

Dung dịch tẩy màu: Methanol - acetic acid - nước cất (4 : 1 : 5).

Tiến hành

Đổ gel agarose 1 % lên phiến kính.

Dùng dụng cụ đục giếng loại có đường kính 3 mm tạo 7 giếng trên phiến kính (1 giếng ở giữa, 6 giếng cách đều xung quanh). Nhỏ huyết thanh kháng loài vào các giếng xung quanh và huyết thanh thử nghiệm vào giếng ở giữa.

Đặt phiến kính vào hộp âm từ 12 giờ đến 48 giờ.

Nhuộm gel với dung dịch nhuộm Coomassie blue 0,025 %. Tẩy màu bằng dung dịch tẩy màu, sau đó rửa bằng nước cất.

Để khô phiến kính ở nhiệt độ phòng.

Kỹ thuật điện di miễn dịch

Nguyên lý

Dưới tác động của điện trường và trong môi trường gel agarose, kháng nguyên tích điện âm từ giếng ở phía cực âm và kháng thể tích điện dương từ giếng ở phía cực dương sẽ di chuyển ngược chiều nhau, khi gặp nhau sẽ hình thành đường tủa có thể nhìn thấy được.

Vật liệu và thiết bị

Phiến kính.

Thạch 3 % trong nước cất.

Agarose 1,5 % trong đệm barbitol pH 8,4.

Huyết thanh miễn dịch thử nghiệm.

Huyết thanh kháng loài.

Máy điện di, nguồn điện.

Dung dịch nhuộm, rửa, tẩy màu....

Tiến hành

Đổ thạch nền 3 % lên phiến kính.

Đổ agarose 1,5 % lên trên thạch nền.

Sau khi agarose đông, đục 2 giếng có đường kính 3 mm, khoảng cách giữa 2 giếng là 4 mm đến 5 mm. Nhỏ huyết thanh thử nghiệm và huyết thanh kháng loài vào mỗi giếng.

Đặt phiến kính vào máy điện di.

Tiến hành điện di ở 10 V/cm từ 10 phút đến 60 phút, tùy thử nghiệm.

Ngừng điện di, quan sát kết quả.

Để dễ quan sát đường tủa, cần loại protein không tủa bằng cách ngâm phiến kính trong đệm PBS. Phủ giấy lọc Whatman lên phiến kính và sấy ở 37 °C đến khô.

Nhuộm xanh với Coomassie blue trong 20 phút.

Tẩy màu, rửa với nước cất, để khô.

Nhận định kết quả

Huyết thanh miễn dịch thử nghiệm được nhận dạng đúng khi xuất hiện đường tủa giữa mẫu thử nghiệm và huyết thanh kháng loài tương ứng.

15.11 XÁC ĐỊNH AN TOÀN CHUNG CỦA VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Xác định độc tính bất thường trong vắc xin - sinh phẩm được tiến hành trên chuột nhắt và chuột lang. Triệu chứng nhiễm độc trên chuột có thể biểu hiện như sau:

Thay đổi diện mạo bên ngoài, xù lông.

Trạng thái bất thường, giảm hoạt động.

Chuột giảm cân.

Chuột chết do nhiễm độc.

Trên chuột lang

Mỗi thử nghiệm dùng 2 chuột lang có trọng lượng 250 g đến 350 g, chưa dùng cho thí nghiệm nào trước đó, khỏe mạnh, tăng trọng bình thường trong thời gian cách ly 3 ngày đến 7 ngày.

Tiêm ổ bụng cho mỗi chuột 1 liều tiêm cho người nhưng không quá 5 ml; trừ một số vắc xin, sinh phẩm đặc biệt sẽ theo chuyên luận riêng. Liều cho người được trình bày trên nhãn sản phẩm.

Cân trọng lượng từng con trước khi tiêm và cân ít nhất 1 lần vào cuối giai đoạn theo dõi. Chuột phải được quan sát kỹ 2 giờ đầu sau tiêm và hàng ngày trong suốt 7 ngày để phát hiện dấu hiệu lâm sàng ốm do nhiễm độc.

Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu toàn bộ chuột thí nghiệm khoẻ mạnh, tăng trọng hoặc giảm cân nhưng không có ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng.

Nếu có nhiều hơn 1 chuột chết thì thử nghiệm không đạt yêu cầu (nếu thử nghiệm đó đã được xác định là có giá trị).

Nếu có 1 chuột chết hoặc chỉ ra dấu hiệu ốm do nhiễm độc trong lần thử đầu tiên, cần làm lại thử nghiệm với số lượng chuột gấp đôi. Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu trong lần thử nghiệm thứ 2 không có chuột nào chết hoặc chỉ ra dấu hiệu ốm do nhiễm độc.

Trên chuột nhắt

Mỗi thử nghiệm dùng 5 chuột nhắt Swiss, có trọng lượng 17 g/con đến 22 g/con chưa dùng thí nghiệm nào trước đó, khoẻ mạnh, tăng trọng bình thường trong thời gian cách ly 3 ngày.

Tiêm ổ bụng 1 liều tiêm cho người nhưng không quá 1 ml, trừ một số vắc xin sinh phẩm đặc biệt sẽ theo chuyên luận riêng. Liều cho người được trình bày trên nhãn sản phẩm.

Cân trọng lượng từng con trước khi tiêm và cân ít nhất 1 lần vào cuối giai đoạn theo dõi. Chuột phải được quan sát kỹ 2 giờ đầu sau tiêm và hàng ngày trong suốt 7 ngày để phát hiện dấu hiệu lâm sàng ốm do nhiễm độc.

Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu toàn bộ chuột thí nghiệm khoẻ mạnh, tăng trọng bình thường hoặc giảm cân nhưng không có ý nghĩa thống kê so với lô đối chứng. Nếu có nhiều hơn 1 chuột chết thì thử nghiệm không đạt yêu cầu (nếu thử nghiệm là có giá trị).

Nếu có 1 chuột chết hoặc chỉ ra dấu hiệu ốm do nhiễm độc trong lần thử đầu tiên cần làm lại thử nghiệm với số lượng chuột gấp đôi. Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu trong lần thử nghiệm thứ 2 không có chuột nào chết hoặc chỉ ra dấu hiệu ốm do nhiễm độc.

15.12 XÁC ĐỊNH CHẤT GÂY SỐT TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Thử nghiệm chất gây sốt là phương pháp sinh học dùng để đánh giá tính chất gây sốt của vắc xin, sinh phẩm dựa trên sự tăng thân nhiệt của thỏ trước và sau khi tiêm vào tĩnh mạch dung dịch mẫu thử.

Lựa chọn động vật thí nghiệm

Thỏ khoẻ mạnh, trưởng thành, đực hoặc cái (nhưng không được mang thai), cân nặng không ít hơn 1,5 kg, được nuôi dưỡng bằng thức ăn không chứa chất kháng sinh và không bị tụt cân trong suốt 1 tuần trước thử nghiệm. Trong thời gian 3 ngày trước khi thí nghiệm, không sử dụng thỏ này cho những thí nghiệm tương tự khác. Cũng có thể sử dụng những thỏ trước đó 3 tuần đã làm thử nghiệm chất gây sốt nhưng kết quả lần thử trước là âm tính.

Phòng thí nghiệm

Thử nghiệm được tiến hành trong phòng yên tĩnh, tránh mọi tiếng động và ánh sáng làm ảnh hưởng đến kết quả thí nghiệm và nhiệt độ phòng không chênh lệch 3 °C so với nơi ở cũ.

Thỏ được nuôi riêng trong phòng yên tĩnh có nhiệt độ 20 °C đến 25 °C, cho ăn thức ăn tổng hợp không có chất kháng sinh. Trước ngày tiêm, để thỏ nhịn ăn qua đêm (nhưng được uống nước) cho đến khi thí nghiệm kết thúc. Không cho uống nước trong thời gian đang làm thí nghiệm.

Thiết bị, dụng cụ

Nhiệt kế: Để đo nhiệt độ của thỏ có thể dùng nhiệt kế hoặc thiết bị điện có độ chính xác 0,1 °C. Khi đo nhiệt độ, nhiệt kế phải đặt sâu trong trực tràng thỏ ít nhất 5 cm, phải để tối thiểu 5 phút. Nếu dùng thiết bị điện, phải đặt yên trong trực tràng ít nhất 90 phút trước khi tiêm và giữ nguyên vị trí đó suốt thời gian thí nghiệm. Dụng cụ thủy tinh, bơm tiêm, kim tiêm: Tất cả phải được rửa sạch bằng nước để pha thuốc tiêm (WFI) và sấy khô 250 °C trong 30 phút hoặc 200 °C trong 60 phút, nếu dùng đồ nhựa phải không chứa chất gây sốt và phải vô trùng.

Lồng thỏ chuyên dụng:

Trước khi bắt đầu, đặt thỏ trong lồng chuyên dụng trong tư thế thoải mái không ít hơn 1 giờ và duy trì ở đó trong suốt thời gian làm thí nghiệm.

Thử nghiệm thăm dò (preliminary test)

1 ngày đến 3 ngày trước khi tiến hành tiêm vắc xin, sinh phẩm cần kiểm tra sơ bộ về tính nhạy cảm cho các thỏ thí nghiệm bằng cách tiêm vào tĩnh mạch 10 ml/kg trọng lượng dung dịch nước muối sinh lý 0,9 % không chứa chất gây sốt đã được làm ấm lên khoảng 38,5 °C. Ghi nhiệt độ trước tiêm và tiếp tục trong vòng 3 giờ sau khi tiêm dung dịch nước muối sinh lý. Nếu thỏ nào có nhiệt độ giao động so với nhiệt độ ban đầu > 0,6 °C sẽ bị loại, không dùng đưa vào thử nghiệm chính.

Thử nghiệm chính (main test): Đối với mẫu vắc xin, sinh phẩm.

Thỏ thí nghiệm là thỏ đạt các tiêu chuẩn trên, được để trong lồng chuyên dụng ít nhất 60 phút để ổn định. Sau đó tiến hành đo nhiệt độ thỏ 2 lần, mỗi lần cách nhau 30 phút (nếu đo tay) hoặc theo chương trình cài đặt (nếu đo bằng thiết bị). Nhiệt độ ban đầu của thỏ là giá trị trung bình của các lần đo này. Tiêu chuẩn đưa vào thí nghiệm là những thỏ có nhiệt độ chênh lệch giữa các lần đo không quá 0,2 °C và nhiệt độ ban đầu nằm trong khoảng 38 °C đến 39,8 °C. Mỗi mẫu thử được tiêm cho một nhóm thỏ 3 con, nhiệt độ chênh lệch trong nhóm không quá 1 °C.

Dung dịch dùng để tiêm thỏ là vắc xin, sinh phẩm nếu ở dạng nước hoặc được hoàn nguyên bằng dung dịch

nước hồi chỉnh đi kèm nếu ở dạng đông khô. Trừ một số vắc xin, sinh phẩm đặc biệt sẽ theo chuyên luận riêng (có thể được pha loãng bằng dung dịch nước muối sinh lý không chứa chất gây sốt).

Tiêm chậm dung dịch vào tĩnh mạch vành tai của mỗi thỏ trong khoảng thời gian không kéo dài quá 4 phút. Thể tích được tiêm cho mỗi thỏ tương ứng với 1 ml/kg cân nặng. Nên làm ấm dung dịch đến 38,5 °C trước khi tiêm. Đo nhiệt độ thỏ ở những khoảng thời gian tùy thuộc vào thiết bị sử dụng (nếu đo tay cứ 1 giờ đo 1 lần; trường hợp dùng thiết bị, nhiệt độ được đo tự động theo chương trình cài đặt) trong khoảng thời gian 3 giờ sau khi tiêm. Nhiệt độ tối đa là nhiệt độ cao nhất đo được trong khoảng thời gian này.

Đánh giá kết quả

Đáp ứng của mỗi thỏ là hiệu số của nhiệt độ tối đa sau khi tiêm mẫu thử và nhiệt độ ban đầu.

Đáp ứng của thỏ bằng 0 nếu nhiệt độ tối đa sau khi tiêm bằng hoặc thấp hơn nhiệt độ ban đầu.

Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu về tiêu chuẩn chất gây sốt nếu nhiệt độ chênh lệch của mỗi thỏ $\leq 0,6$ °C và tổng nhiệt độ chênh lệch của 3 thỏ $\leq 1,3$ °C. Nếu $> 2,4$ °C coi như không đạt yêu cầu.

Nếu tổng nhiệt độ chênh lệch của 3 thỏ nằm trong khoảng $> 1,3$ °C đến $2,4$ °C thì thử nghiệm cần phải tiến hành thêm trên 3 thỏ khác. Mẫu thử đạt yêu cầu về tiêu chuẩn chất gây sốt khi tổng nhiệt độ chênh lệch (cộng dồn) của cả 6 thỏ ≤ 3 °C. Nếu $> 4,1$ °C coi như không đạt yêu cầu.

Nếu tổng nhiệt độ chênh lệch (cộng dồn) của 6 thỏ nằm trong khoảng > 3 °C đến $4,1$ °C thì cần phải làm thêm lần cuối trên 3 thỏ khác. Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu về tiêu chuẩn chất gây sốt khi tổng nhiệt độ chênh lệch của 9 thỏ (cộng dồn) phải $\leq 4,9$ °C. Nếu $> 4,9$ °C coi như không đạt yêu cầu và phải hủy vắc xin hay sinh phẩm thử nghiệm.

15.14 PHƯƠNG PHÁP LẤY MẪU VÀ LƯU MẪU

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp lấy mẫu cho các loại sinh phẩm sau đây:

Các loại vắc xin làm từ vi khuẩn hoặc virus, dùng để phòng bệnh cho người.

Các dung dịch dùng để hồi chỉnh các sinh phẩm dạng đông khô.

PHƯƠNG PHÁP LẤY MẪU

Nguyên tắc

Phải lấy mẫu ở công đoạn sản xuất, với số lượng đủ tính đại diện.

Các mẫu phải lấy trong điều kiện vô khuẩn bằng những dụng cụ đã vô khuẩn.

Cách lấy mẫu

Mẫu được lấy trong các giai đoạn sau:

Lấy mẫu bán thành phẩm cuối cùng

Trước khi lấy mẫu phải lắc kỹ chai hoặc bình chứa bán thành phẩm cuối cùng. Lấy ít nhất 10 ml cấy vào trong 2 loại môi trường thử.

Lấy mẫu trong quá trình đóng ống

Để kiểm tra tính vô khuẩn trong quá trình đóng ống phải lấy mẫu ít nhất tại thời điểm đầu, giữa và cuối quá trình đóng ống. Tổng số mẫu lấy tùy thuộc số lượng thành phẩm (xem Bảng 15.14).

Đối với quá trình đóng ống mà sau đó sinh phẩm phải đông khô thì sau giai đoạn đông khô cũng phải lấy mẫu để kiểm tra vô khuẩn.

Lấy mẫu thành phẩm

Mẫu thành phẩm cần kiểm tra phải đảm bảo đại diện cho cả loạt thành phẩm. Mẫu lấy kiểm tra phải bao gồm cả mẫu của giai đoạn đầu và cuối của quá trình đóng ống. Nếu loạt bán thành phẩm cùng trong bình chứa (tank), nhưng được đóng làm nhiều lần, thì mẫu lấy của mỗi lần (gọi là một loạt đóng ống) phải đại diện cho toàn bộ quá trình đóng ống của lần đó và được kiểm tra riêng về mặt vô trùng. Số lượng mẫu cần lấy để kiểm tra do cơ quan Kiểm định Quốc gia quy định.

Số lượng mẫu lấy

Mỗi giai đoạn phải lấy số mẫu phù hợp để kiểm định. Công thức lấy mẫu để kiểm tra theo quy định của Tổ chức Y tế Thế giới là $0,4\sqrt{N}$; trong đó N là số lượng ống, lọ của loạt thành phẩm đó.

Đối với loạt thành phẩm có ít hơn 100 ống thì phải lấy 10 % số ống để kiểm tra.

Cần lưu ý: Riêng với thử nghiệm vô trùng, số lượng mẫu lấy ở mỗi giai đoạn phải đủ cho ít nhất 3 lần thử nghiệm phòng trường hợp phải nhắc lại thử nghiệm.

Lưu mẫu

Mỗi loạt sinh phẩm thành phẩm đều phải giữ mẫu lưu. Mẫu lưu này được giữ cho đến khi vắc xin và sinh phẩm hết hạn sử dụng. Phải ghi nhãn cẩn thận số loạt và tên sinh phẩm. Các cơ sở sản xuất cần phải lưu một lượng mẫu đủ để có thể tiến hành kiểm tra vô khuẩn lại khi cần thiết.

Số lần kiểm định

Thông thường, số lượng mẫu lấy phải bảo đảm cho các thử nghiệm kiểm định của 3 cấp như sau: Kiểm định sản xuất (kiểm định cấp I); Kiểm định địa phương (kiểm định cấp II) và Kiểm định Quốc gia (kiểm định cấp III).

Bảng 15.14- Số lượng mẫu được lấy cho thử nghiệm vô khuẩn vắc xin, sinh phẩm

Số lượng thành phẩm /loạt	Thể tích được đóng trong 1 ống hoặc lọ vắc xin, sinh phẩm																	
	0,5 ml						1 ml đến 1,5 ml						≥ 2 ml					
	Tổng số		SX		KĐDP		Tổng số		SX		KĐDP		Tổng số		SX		KĐDP	
	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô
Từ 501 đến 1000	16	16	2	8	2	8	6	12	3	6	3	6	12	12	6	6	6	6
Từ 1001 đến 2000	24	24	3	12	3	12	8	16	4	8	4	8	18	18	9	9	9	9
Từ 2001 đến 3000	24	24	3	12	3	12	10	20	4	10	5	10	22	22	11	11	11	11
Từ 3001 đến 4000	24	24	3	12	3	12	12	24	6	12	6	12	26	26	13	13	13	13
Từ 4001 đến 5000	32	32	4	16	4	16	14	28	7	14	7	14	28	28	14	14	14	14
Từ 5001 đến 6000	32	32	4	16	4	16	16	32	8	16	8	16	32	32	16	16	16	16
Từ 6001 đến 7000	32	32	4	16	4	16	16	32	8	16	8	16	34	34	17	17	17	17
Từ 7001 đến 8000	40	40	5	20	5	20	18	36	9	18	9	18	36	36	18	18	18	18
Từ 8001 đến 9000	40	40	5	20	5	20	20	40	10	20	10	20	38	38	19	19	19	19
Từ 9001 đến 10000	40	40	5	20	5	20	20	40	10	20	10	20	40	40	20	20	20	20
> 10.000	40	40	5	20	5	20	20	40	10	20	10	20	40	40	20	20	20	20

Ghi chú:

M: Số mẫu được lấy để kiểm định.

Ô: Số lượng lọ vắc xin, sinh phẩm lấy để kiểm tra vô khuẩn.

SX: Kiểm định sản xuất (cấp I).

KĐDP: Kiểm định địa phương (cấp II).

Số lượng mẫu lấy để kiểm tra vô khuẩn của sản phẩm tối thiểu phải đủ cho kiểm định sản xuất, kiểm định địa phương và lưu mẫu. Nếu Kiểm định Quốc gia cần kiểm tra lại thử nghiệm vô khuẩn thì số lượng mẫu thử bằng số lượng mẫu mà kiểm định địa phương đã làm.

Trường hợp cần hủy một loạt sinh phẩm do không đạt tiêu chuẩn lý học (đục, tủa) thì toàn bộ số ống đó phải chuyển qua kiểm định địa phương để tìm nguyên nhân. Số lượng thành phẩm cần lấy để kiểm tra vô khuẩn sẽ tùy thuộc vào tổng số ống của mỗi loạt và thể tích sinh phẩm có trong 1 ống hoặc lọ (Bảng 15.14).

Xử lý mẫu

Mẫu kiểm định phải bảo quản theo những quy định phù hợp cho từng loại sinh phẩm và phải được tiến hành kiểm định ngay. Nếu chưa kiểm định được, nhất thiết phải bảo quản ở nhiệt độ quy định.

Các mẫu kiểm định phải có thông tin như sau:

Tên sản phẩm;

Ngày sản xuất;

Số loạt;

Số lượng sản phẩm;

Yêu cầu kiểm định;

Số lượng mẫu gửi kiểm định;

Ngày lấy mẫu;

Đơn vị gửi mẫu.

PHƯƠNG PHÁP LƯU MẪU

Tại cơ quan kiểm định quốc gia chỉ lưu mẫu sinh phẩm ở dạng thành phẩm cuối cùng, mẫu lưu phải được bảo quản ít nhất đến khi hết hạn sử dụng.

Mẫu lưu do phòng kiểm định cấp 2 giữ tại các cơ sở sản xuất. Các mẫu kiểm định cấp 2 được lấy cùng thời

điểm với mẫu gửi cho cơ quan Kiểm định Quốc gia. Mẫu gửi Kiểm định Quốc gia cần bảo quản đúng nhiệt độ quy định trong suốt quá trình vận chuyển (trong trường hợp đơn vị sản xuất ở cách xa cơ quan kiểm định).

Các mẫu lưu của từng sinh phẩm phải được đóng gói cẩn thận, gắn xi (hoặc có băng bảo đảm) ngoài bao bì phải ghi rõ các thông tin sau:

Tên sinh phẩm;

Số loạt;

Số lượng lưu mẫu;

Ngày lưu mẫu;

Nhiệt độ bảo quản trong thời gian lưu mẫu;

Thời gian lưu mẫu tùy thuộc vào từng loại sinh phẩm và hạn dùng của sinh phẩm đó.

15.15 XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ HUYẾT THANH KHÁNG ĐỘC TỔ BẠCH HẦU

Hiệu giá huyết thanh kháng độc tố bạch hầu được xác định bằng cách so sánh khả năng trung hòa một lượng cố định độc tố bạch hầu của kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm và kháng độc tố bạch hầu chuẩn thông qua thử nghiệm trung hòa độc tố trên chuột lang hoặc trong da thỏ.

Thử nghiệm trung hòa độc tố bạch hầu trên chuột lang

Xác định liều độc tố bạch hầu thử nghiệm (L^+)

L^+ là lượng độc tố bạch hầu nhỏ nhất còn lại sau khi trung hòa với 1 đơn vị quốc tế (IU) của kháng độc tố

bạch hầu chuẩn đủ để gây chết 1 chuột lang có trọng lượng đã xác định trong thời gian từ 4 ngày đến 6 ngày.

Pha kháng độc tố bạch hầu chuẩn với nước muối sinh lý (0,85 %) để có dung dịch kháng độc tố chứa 3,0 IU/ml.

Pha độc tố bạch hầu với nước muối sinh lý (hoặc dung dịch pepton 1 %) để có dung dịch độc tố chứa 3 Lf/ml đến 4 Lf/ml.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn chứa 3,0 IU/ml, một thể tích thay đổi dung dịch độc tố bạch hầu (ví dụ 0,6 ml; 0,7 ml; 0,8 ml; 0,9 ml; 1,0 ml;... tùy theo độc tính của độc tố bạch hầu) và nước muối sinh lý để vừa đủ 6,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống, để yên ở 37 °C trong 60 phút, tránh ánh sáng.

Tiêm 2,0 ml vào dưới da đùi cho mỗi chuột lang trọng lượng từ 250 g đến 300 g, dùng 2 chuột cho mỗi độ pha.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết trong thời gian từ 4 ngày đến 6 ngày.

Cách xác định: Hỗn dịch nào có lượng độc tố bạch hầu nhỏ nhất sau khi tiêm gây chết 100 % chuột trong vòng 4 ngày đến 6 ngày sẽ có chứa lượng độc tố 3 L⁺ hay 1 L⁺/1 chuột lang.

Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố bạch hầu

Là xác định số đơn vị quốc tế kháng độc tố bạch hầu có trong 1,0 ml của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm.

Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch 3,0 đơn vị quốc tế /ml.

Pha độc tố bạch hầu với nước muối sinh lý (hoặc dung dịch pepton 1 %) để có dung dịch độc tố chứa 3L⁺ trong một thể tích đã xác định.

Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm với nước muối sinh lý để có các độ pha 1/300; 1/400; 1/500; 1/600; 1/700; vv... tùy theo hiệu giá có thể có được của kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: Một lượng dung dịch độc tố bạch hầu chứa 3L⁺; 3,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm ở mỗi độ pha loãng và nước muối sinh lý để vừa đủ 6,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

Pha mẫu chứng: Cho vào 3 ống nghiệm lần lượt: Một lượng dung dịch độc tố bạch hầu có chứa 3 L⁺, một trong 3 lượng 0,9 ml; 1,0 ml; 1,1 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn chứa 3,0 IU/ml và sau đó một lượng nước muối sinh lý để vừa đủ 6,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống, để yên ở 37 °C trong 60 phút, tránh ánh sáng.

Tiêm 2,0 ml vào dưới da đùi cho mỗi chuột nhắt, dùng 2 chuột cho mỗi độ pha.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết trong thời gian từ 4 ngày đến 6 ngày.

Cách tính hiệu giá

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi mẫu chứng có chứa 0,9 ml và 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn gây chết 100 % chuột trong vòng 4 ngày đến 6 ngày và mẫu chứng có chứa 1,1 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn không được gây chết chuột trong thời gian theo dõi.

Dung dịch nào có chứa lượng kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm lớn nhất không bảo vệ được chuột trong thời gian 4 ngày đến 6 ngày giống như mẫu chứng có chứa 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn sẽ có chứa 1,0 IU/ml.

Hiệu giá của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu được tính như sau:

$$\text{Hiệu giá (IU/ml)} = 1,0 \times N$$

Trong đó:

N là số lần pha loãng kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm;

1,0 là số IU có trong dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn dùng để trung hòa 1L⁺ trong thử nghiệm.

Thử nghiệm trung hòa độc tố bạch hầu trong da thỏ

Xác định liều độc tố bạch hầu thử nghiệm (L⁺/30)

L⁺/30 là lượng độc tố bạch hầu nhỏ nhất còn lại sau khi trung hòa với 1/30 đơn vị quốc tế (IU) của kháng độc tố bạch hầu chuẩn đủ để gây phản ứng Shick trên da thỏ trong 48 giờ.

Pha kháng độc tố bạch hầu chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch kháng độc tố chứa 1,0 IU/ml.

Pha độc tố bạch hầu với nước muối sinh lý (hoặc dung dịch pepton 1 %) để có dung dịch độc tố chứa khoảng 1,0 Lf/ml.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn chứa 1,0 IU/ml, một thể tích thay đổi dung dịch độc tố bạch hầu (ví dụ 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml; 0,6 ml; ... tùy theo độc tính của độc tố bạch hầu) và nước muối sinh lý để vừa đủ 3,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống nghiệm và để yên ở 37 °C trong 60 phút, tránh ánh sáng.

Tiêm 0,1 ml trong da thỏ, loại có trọng lượng từ 2,5 kg/con đến 3,0 kg/con.

Theo dõi thử nghiệm và đo đường kính quãng đỏ trong vòng 48 giờ.

Cách xác định: Độ pha nào của độc tố bạch hầu tạo phản ứng Shick với đường kính từ 12 mm đến 15 mm sẽ có chứa 30 L⁺/30 trong 3,0 ml hay L⁺/30 trong 0,1 ml.

Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố bạch hầu

Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch 1,0 đơn vị quốc tế /ml.

Pha độc tố bạch hầu với nước muối sinh lý (hoặc dung dịch pepton 1 %) để có dung dịch độc tố chứa 30 L⁺/30 trong một thể tích đã xác định.

Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm với nước muối sinh lý để có các độ pha 1/300; 1/400; 1/500; 1/600; 1/700;... tùy theo hiệu giá có thể có được của kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: Một lượng dung dịch độc tố bạch hầu chứa 30 L⁺/30 đã xác định; 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm ở mỗi độ pha loãng và nước muối sinh lý để vừa đủ 3,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

Pha mẫu chứng: Cho vào 3 ống nghiệm lần lượt: Một lượng dung dịch độc tố bạch hầu chứa 30 L⁺/30, một trong 3 lượng 0,9 ml; 1,0 ml; 1,1 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn chứa 1,0 IU/ml và sau đó một lượng nước muối sinh lý để vừa đủ 3,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống, để yên ở 37 °C trong 60 phút, tránh ánh sáng.

Tiêm 0,1 ml trong da thỏ, loại có trọng lượng từ 2,50 kg/con đến 3,0 kg/con, dùng 3 thỏ cho mỗi thử nghiệm.

Theo dõi thỏ thử nghiệm và đo đường kính quanh đờ trong vòng 48 giờ.

Cách tính hiệu giá

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi mẫu chứng chứa 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn tạo phản ứng Shick với đường kính từ 12 mm đến 15 mm. Hỗn dịch nào chứa lượng kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm lớn nhất tạo phản ứng Shick với đường kính 12 mm đến 15 mm tương đương với mẫu chứng chứa 1,0 ml kháng độc tố bạch hầu chuẩn sẽ có chứa 1 IU/ml.

Hiệu giá của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm được tính như sau:

$$\text{Hiệu giá (IU/ml)} = 1,0 \times N$$

Trong đó:

N là số lần pha loãng kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm; 1,0 là số IU có trong dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn dùng để trung hòa 30 L⁺/30 trong thử nghiệm.

15.16 XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ HUYẾT THANH KHÁNG ĐỘC TỐ UỐN VÁN

Hiệu giá huyết thanh kháng độc tố uốn ván được xác định bằng cách so sánh mức độ bảo vệ giữa liều kháng độc tố uốn ván thử nghiệm và kháng độc tố uốn ván chuẩn đối với chuột nhắt trắng có trọng lượng 16 g đến 18 g sau khi đã trung hòa một lượng cố định độc tố uốn ván.

Xác định liều độc tố uốn ván thử nghiệm (L⁺/10)

L⁺/10 là lượng độc tố uốn ván nhỏ nhất còn lại sau khi trung hòa với 0,1 đơn vị quốc tế (IU) của kháng độc tố uốn ván chuẩn đủ để gây chết 1 chuột có trọng lượng đã xác định trong thời gian 96 giờ.

Pha kháng độc tố uốn ván chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch kháng độc tố chứa 0,5 IU/ml.

Pha độc tố uốn ván với nước muối sinh lý (hoặc dung dịch pepton 1 %) để có dung dịch độc tố chứa 3 Lf/ml đến 5 Lf/ml.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 1,0 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván chuẩn chứa 0,5 IU/ml, một thể tích thay đổi dung dịch độc tố uốn ván (ví dụ 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml... tùy theo độc tính của độc tố uốn ván) và nước muối sinh lý để vừa đủ 2,5 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống nghiệm và để yên ở 37 °C trong 45 phút, tránh ánh sáng.

Tiêm 0,5 ml dưới da cho mỗi chuột nhắt, dùng 4 chuột cho mỗi độ pha.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết trong 96 giờ.

Cách xác định: Hỗn dịch nào có lượng độc tố thấp nhất sau khi tiêm gây chết chuột trong vòng 96 giờ sẽ có chứa lượng độc tố 5 L⁺/10 trong 2,5 ml hay 1 L⁺/10 trong 0,5 ml (một liều tiêm/1 chuột).

Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố uốn ván

Hiệu giá huyết thanh kháng độc tố uốn ván là số đơn vị quốc tế (IU) kháng độc tố uốn ván có trong 1,0 ml huyết thanh thử nghiệm.

Pha huyết thanh kháng độc tố uốn ván chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch 0,5 IU /ml.

Pha độc tố uốn ván với nước muối sinh lý (hoặc dung dịch pepton 1 %) để có dung dịch độc tố chứa 5 L⁺/10 trong 1 thể tích xác định.

Pha huyết thanh kháng độc tố uốn ván thử nghiệm với nước muối sinh lý để có các độ pha 1/2600; 1/2800; 1/3000; 1/3200; 1/3400;... tùy theo hiệu giá có thể có được của kháng độc tố uốn ván thử nghiệm.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 1 thể tích dung dịch độc tố uốn ván chứa 5L⁺/10; 1,0 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván thử nghiệm ở mỗi độ pha loãng và nước muối sinh lý để vừa đủ 2,5 ml trong mỗi ống nghiệm.

Pha mẫu chứng: Cho vào 3 ống nghiệm lần lượt: Một thể tích dung dịch độc tố uốn ván chứa 5 L⁺/10, một trong 3 lượng 0,9 ml; 1,0 ml; 1,1 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván chuẩn chứa 0,5 IU/ml và sau đó một lượng nước muối sinh lý để vừa đủ 2,5 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống nghiệm và để yên ở 37 °C trong 45 phút, tránh ánh sáng.

Tiêm 0,5 ml dưới da cho mỗi chuột nhắt, dùng 4 chuột cho mỗi độ pha.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết trong 96 giờ.

Cách tính hiệu giá

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi mẫu chứng có chứa 0,9 ml và 1,0 ml dung dịch kháng độc tổ uốn ván chuẩn gây chết 100 % chuột trong vòng 96 giờ và mẫu có chứa 1,1 ml dung dịch kháng độc tổ uốn ván chuẩn không được gây chết chuột trong thời gian theo dõi.

Dung dịch nào có chứa lượng kháng độc tổ uốn ván thử nghiệm lớn nhất không bảo vệ được chuột trong thời gian 96 giờ giống như mẫu chứng có chứa 1,0 ml dung dịch kháng độc tổ uốn ván chuẩn sẽ có chứa 0,5 IU/ml.

Hiệu giá của huyết thanh kháng độc tổ uốn ván được tính như sau:

$$\text{Hiệu giá (IU/ml)} = 0,5 \times N$$

Trong đó:

N là số lần pha loãng kháng độc tổ uốn ván thử nghiệm;
0,5 là số IU có trong 1 ml dung dịch kháng độc tổ uốn ván chuẩn dùng trong thử nghiệm.

15.17 XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ HUYẾT THANH KHÁNG DẠI

Hiệu giá huyết thanh kháng đại được xác định dựa trên nguyên lý của phản ứng trung hòa in vivo của một liều cố định virus đại thử thách với các độ pha loãng khác nhau của huyết thanh kháng đại.

Xác định hiệu giá của virus thử thách

Chủng virus đại thử thách được dùng trong thử nghiệm xác định hiệu giá của huyết thanh kháng đại là chủng CVS (Challenge virus strain), được giữ ở dạng hỗn dịch 20 % não chuột, bảo quản ở nhiệt độ -70 °C. Làm tan băng nhanh ống đựng chủng virus đại thử thách dưới vòi nước chảy.

Pha loãng bậc 10 với dung dịch huyết thanh ngựa thường 2 % (đã được bất hoạt 30 phút ở 56 °C) để có nồng độ từ 2×10^{-2} , 2×10^{-3} đến 2×10^{-9} .

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 0,5 ml hỗn dịch virus của mỗi độ pha loãng, từ 2×10^{-4} đến 2×10^{-9} và 0,5 ml dung dịch huyết thanh ngựa thường 20 %.

Lắc đều các ống, để yên ở 37 °C trong 90 phút.

Tiêm 0,03 ml vào não của mỗi chuột nhất, dùng 6 chuột có trọng lượng 14 g/con đến 16 g/con cho mỗi độ pha. Các ống chủng được giữ trong nước đá trong suốt quá trình tiêm.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết từ ngày thứ 6 đến ngày thứ 20 sau khi tiêm.

Tính LD₅₀ theo Spearman - Kaber.

Xác định hiệu giá huyết thanh kháng đại

Pha loãng huyết thanh kháng đại chuẩn quốc tế, huyết thanh kháng đại thử nghiệm và trung hòa với virus thử thách:

Pha huyết thanh kháng đại chuẩn quốc tế với nước muối sinh lý để có dung dịch huyết thanh kháng đại chuẩn chứa 10 đơn vị quốc tế (IU)/ml.

Pha huyết thanh kháng đại thử nghiệm với nước muối sinh lý để có dung dịch huyết thanh kháng đại thử nghiệm chứa khoảng 10 IU/ml.

Pha loãng bậc 5 hai dung dịch trên với dung dịch huyết thanh ngựa thường 2 % để có các độ pha 1/5; 1/25; 1/125; 1/625 và 1/3125.

Pha hỗn dịch virus thử thách đã biết hiệu giá để có 200 LD₅₀/0,03 ml.

Trong một dãy các ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 0,5 ml huyết thanh kháng đại ở mỗi độ pha loãng và 0,5 ml hỗn dịch virus thử thách có chứa 200 LD₅₀/0,03 ml.

Lắc đều các ống nghiệm và để yên ở 37 °C trong 90 phút.

Giữ các ống trong nước đá trong suốt quá trình tiêm.

Tiêm 0,03 ml vào não của mỗi chuột nhất, dùng 6 chuột có trọng lượng 14 g đến 16 g cho mỗi độ pha của kháng huyết thanh.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết từ ngày thứ 6 đến ngày thứ 20 sau khi tiêm.

Xác định số LD₅₀ của chủng virus đại trong thử nghiệm (nhóm chứng):

Từ hỗn dịch virus pha để trung hòa có chứa 200 LD₅₀/0,03 ml đã nêu ở trên, được xem là 10° để từ đó pha loãng bậc 10 thành 3 độ pha 10⁻¹; 10⁻² và 10⁻³.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 0,5 ml hỗn dịch virus từ mỗi độ pha và 0,5 ml dung dịch huyết thanh ngựa thường 20 %.

Lắc đều các ống nghiệm và để yên ở 37 °C trong 90 phút.

Giữ các ống trong nước đá.

Tiêm 0,03 ml vào não của mỗi chuột nhất, dùng 6 chuột có trọng lượng 14 g đến 16 g cho mỗi độ pha của hỗn dịch virus đại.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết từ ngày thứ 6 đến ngày thứ 20 sau khi tiêm.

Tính LD₅₀ theo bảng Spearman - Kaber.

Tính kết quả

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi số LD₅₀ để trung hòa huyết thanh kháng đại là 100 LD₅₀ đến 300 LD₅₀ trong 0,03 ml.

Tính ED₅₀ của huyết thanh kháng đại theo phương pháp Spearman - Kaber.

Hiệu giá của huyết thanh kháng đại được tính ra đơn vị quốc tế trong 1 ml và bằng:

Anti log (ED₅₀ huyết thanh chuẩn quốc tế: ED₅₀ huyết thanh thử nghiệm) × 2 × N

Trong đó:

2 là số IU có trong 1 ml huyết thanh kháng đại chuẩn quốc tế dùng trong thử nghiệm;

N là số lần pha loãng huyết thanh kháng đại thử nghiệm.

15.18 XÁC ĐỊNH NITROGEN TOÀN PHẦN CỦA VẮC XIN VÀ SINH PHẨM BẰNG THUỐC THỬ NESSLER

Nguyên lý

Phương pháp dựa vào tính chất của thuốc thử Nessler cho phản ứng màu với ion amoni (NH_4^+) được tạo thành sau khi vô cơ hóa các chất protein.

Phương pháp tiến hành

a. Chuẩn bị mẫu thử

Cho 0,2 ml chế phẩm và 0,2 ml dung dịch acid sulfuric đậm đặc vào một ống thủy tinh và đem đốt trên bếp cát. Để tăng tốc độ phản ứng, thỉnh thoảng cho vài giọt dung dịch oxy già đậm đặc vào ống đốt sau khi làm nguội. Khi chế phẩm đã được vô cơ hóa hoàn toàn, dung dịch mất màu, cho nước cất vừa đủ 10 ml thu được dung dịch A.

Lấy 1 ml dung dịch A vào ống nghiệm, thêm 8,5 ml nước cất và 0,5 ml thuốc thử Nessler, được mẫu thử.

b. Tiến hành làm mẫu trắng gồm: 9,5 ml nước cất và 0,5 ml thuốc thử Nessler.

c. Tiến hành dựng đường chuẩn

Hút dung dịch amoni sulfat chuẩn có hàm lượng 0,05 mg nitrogen/ml vào các ống nghiệm theo thứ tự sau: 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml; 0,6 ml và 0,7 ml. Cho nước cất vừa đủ 9,5 ml và 0,5 ml thuốc thử Nessler.

Lắc đều các ống nghiệm.

Đo quang phổ ở bước sóng 420 nm.

Vẽ đường cong chuẩn.

Lượng protein toàn phần trong chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$X(\text{g}\%) = \frac{a \times 6,25 \times 10 \times 100}{1,0 \times 0,2 \times 1000000} = a \times 0,03125$$

Trong đó:

a là lượng nitơ tìm được trên đường chuẩn (g);

6,25 là hệ số chuyển đổi nitơ thành protein;

10 là độ pha loãng dung dịch vô cơ hóa;

100 là chuyển thành phần trăm;

1,0 là lượng mẫu thử đem so màu (ml);

0,2 là lượng mẫu thử đem vô cơ hóa (ml);

1000000 là hệ số chuyển μg thành g.

Cách pha dung dịch amoni sulfat chuẩn có hàm lượng nitơ 0,05 mg/ml

Cân 0,2375 g amoni sulfat (đã được sấy khô trong bình hút ẩm bằng silica gel đến trọng lượng không

đổi), hòa tan vào vừa đủ 500 ml nước cất. Dung dịch vừa pha có hàm lượng nitrogen là 0,1 mg/ml, trước khi dùng pha loãng 2 lần bằng nước cất.

Tiêu chuẩn cho phép

Hàm lượng nitrogen toàn phần trong vắc xin và sinh phẩm tùy theo yêu cầu đối với từng loại mẫu thử (xem trong phần các vắc xin và sinh phẩm cụ thể).

15.19 THỬ NGHIỆM NHẬN DẠNG THÀNH PHẦN BẠCH HẦU - UỐN VÁN - HO GÀ TRONG VẮC XIN DTWP HẤP PHỤ

Các thành phần bạch hầu, uốn ván, ho gà toàn tế bào trong vắc xin DTWP hấp phụ được tiến hành kiểm tra nhận dạng theo các bước như sau:

Giải hấp phụ

Vắc xin Bạch hầu - Uốn ván - Ho gà (toàn tế bào) hấp phụ được tách gel bằng cách cho thêm *natri citrat* với nồng độ 5 % ở 37 °C trong 48 giờ. Sau đó ly tâm 2000 vòng/phút trong 15 phút. Nước nổi được dùng để nhận dạng thành phần bạch hầu và uốn ván bằng phản ứng lên bông, cần ly tâm dùng để nhận dạng thành phần ho gà có trong vắc xin bằng phản ứng ngưng kết trên phiến kính với các huyết thanh kháng ho gà đặc hiệu.

Nhận dạng thành phần bạch hầu và uốn ván bằng phương pháp lên bông với các kháng huyết thanh bạch hầu, uốn ván đặc hiệu

Dùng phản ứng lên bông hoặc thử nghiệm miễn dịch khuếch tán trên thạch - Ouchterlony.

Phương pháp tiến hành (phản ứng lên bông)

Dùng 5 ống nghiệm thủy tinh có đường kính 10 mm, đánh số thứ tự từ 1 đến 5 để làm thử nghiệm kiểm tra sự có mặt của thành phần bạch hầu.

Dùng 5 ống nghiệm thủy tinh khác có đường kính 10 mm, đánh số thứ tự từ 6 đến 10 để làm thử nghiệm kiểm tra sự có mặt của thành phần uốn ván.

Kháng độc tố bạch hầu hoặc uốn ván được pha loãng đến nồng độ 20 IU/ml.

Cho vào dãy ống nghiệm từ 1 đến 5 lượng huyết thanh chuẩn kháng độc tố bạch hầu tăng dần đều trong khoảng tương ứng với lượng kháng nguyên giải độc tố bạch hầu có trong nước nổi vắc xin. Tương tự, cho vào dãy ống nghiệm từ 6 đến 10 lượng huyết thanh chuẩn kháng độc tố uốn ván tăng dần đều trong khoảng tương ứng với lượng kháng nguyên giải độc tố uốn ván có trong nước nổi vắc xin.

Ví dụ lượng huyết thanh chuẩn kháng độc tố bạch hầu (20 IU/ml) và lượng huyết thanh chuẩn kháng độc tố uốn ván (200 IU/ml) được cho vào các ống như sơ đồ sau:

Ống số	Thể tích huyết thanh (ml)	Ống số	Thể tích (ml)
1	0,3	6	0,16
2	0,4	7	0,18
3	0,5	8	0,20
4	0,6	9	0,22
5	0,7	10	0,24

Thêm nước muối sinh lý vào các ống cho đủ 1 ml.

Cho vào mỗi ống nghiệm 1 ml nước nổi.

Đậy các ống nghiệm bằng giấy parafin. Lắc đều và đặt vào nồi cách thủy ở nhiệt độ 45 °C. Quan sát liên tục dưới ánh đèn, ghi nhận thời gian của ống nghiệm đầu tiên xuất hiện sự lên bông và khoảng thời gian lên bông (Kf).

Nhận định kết quả

Hàm lượng Lf/ml của thành phần bạch hầu hoặc uốn ván tính theo công thức:

$$\text{Lf/ml} = \frac{\text{X ml huyết thanh} \times \text{Số đơn vị huyết thanh/ml}}{\text{Số ml nước nổi}}$$

Ví dụ: Ống số 3 lên bông đầu tiên tức hàm lượng Lf/ml của thành phần bạch hầu có trong 1 ml vắc xin thử là:

$$\frac{0,5 \text{ ml huyết thanh} \times 20 \text{ IU/ml}}{1 \text{ ml}} = 10 \text{ Lf/ml}$$

Tương tự nếu thấy ống số 8 lên bông có nghĩa là hàm lượng Lf/ml của thành phần uốn ván có trong 1 ml vắc xin thử là: 4 Lf/ml.

Trong thí dụ trên: Hiện tượng lên bông xảy ra chỉ chứng tỏ trong mẫu thử nghiệm có chứa giải độc tố bạch hầu hoặc uốn ván chứ không phản ánh công hiệu của giải độc tố.

Nhận dạng thành phần ho gà trong vắc xin DTWP

Cận của vắc xin DTP hấp phụ sau khi ly tâm được ngưng kết trên phiến kính với kháng huyết thanh ho gà đặc hiệu typ 1, 2, 3.

Hiện tượng ngưng kết xảy ra chứng tỏ trong mẫu thử nghiệm có chứa vi khuẩn ho gà.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Có hiện tượng lên bông khi làm phản ứng với huyết thanh chuẩn kháng độc tố bạch hầu, uốn ván và có phản ứng ngưng kết với huyết thanh chuẩn ho gà đặc hiệu typ 1, 2, 3.

15.20 XÁC ĐỊNH ĐỘC TỐ THẦN KINH TỒN DƯ TRONG VẮC XIN BẠI LIỆT UỐNG

Khí dùng để thử nghiệm có trọng lượng không dưới 1,5 kg. Dùng khí loài *Macaca* hoặc *Cercopithecus*. Hỗn dịch bán thành phẩm đã lọc phải thử song song

với chế phẩm chuẩn bằng cách tiêm vào vùng thất lưng của tủy sống khỉ. Trước khi tiêm phải lấy máu khỉ và kiểm tra để chứng tỏ huyết thanh của chúng không chứa kháng thể trung hòa đối với từng týp virus bại liệt. Những tiêu bản tổ chức học khi đã đọc xong cần phải được lưu lại trong thời gian 10 năm để làm bằng chứng.

Số lượng khỉ

Vắc xin thử và mẫu chuẩn đồng týp cần thử nghiệm song song với số lượng khỉ bằng nhau. Phân chia ngẫu nhiên nhóm khỉ sẽ được tiêm vắc xin thử hoặc mẫu chuẩn. Phải đạt được ít nhất 11 khỉ dương tính cho vắc xin thử và ít nhất 11 khỉ dương tính cho mẫu chuẩn đối với týp 1 và týp 2 (khỉ dương tính là khỉ có những tổn thương thần kinh đặc hiệu do virus bại liệt ở hệ thần kinh trung ương nhưng không bị liệt). Đối với týp 3 phải có ít nhất 18 khỉ dương tính cho vắc xin thử và 18 khỉ dương tính cho mẫu chuẩn. Có thể tiêm một lúc nhiều loạt vắc xin bán thành phẩm mà chỉ cần 1 mẫu chuẩn đồng týp.

Để có thể có được 11 và 18 khỉ dương tính thường là tiêm 12 và 20 khỉ tương ứng.

Gây mê khỉ bằng ketamin hydroclorid hoặc những thuốc gây mê phù hợp khác.

Hàm lượng virus của vắc xin thử và mẫu chuẩn trong liều tiêm

Hàm lượng virus của vắc xin thử và mẫu chuẩn đồng týp tiêm cho khỉ phải càng giống nhau càng tốt và nằm trong khoảng $10^{5,5}$ đến $10^{6,5}$ CCID₅₀/0,1 ml. Chỉ tiêm một đậm độ.

Theo dõi khỉ sau tiêm

Theo dõi khỉ sau tiêm từ 17 ngày đến 22 ngày để phát hiện triệu chứng nghi do virus bại liệt hoặc các virus khác. Những khỉ sống qua 24 giờ và chết trước 11 ngày sau tiêm cần phải giải phẫu để xác định xem có phải chết do virus bại liệt hay không.

Tất cả những khỉ chết do những nguyên nhân không phải virus bại liệt thì không tính vào kết quả nhưng vẫn phải ghi vào phiếu theo dõi.

Những khỉ liệt nặng hoặc hấp hối và tất cả những khỉ sống qua giai đoạn theo dõi đều phải giải phẫu đại thể và vi thể.

Số lượng các tiêu bản phải đánh giá

* Phải làm tiêu bản từng con khỉ để kiểm tra tổ chức học ít nhất các vùng sau:

Tủy sống: Vùng phình lưng, vùng phình cổ.

Phần trên và phần dưới của hành tủy.

Não giữa (mesocephalon).

Cầu não, tiểu não.

Đồi thị.

Vùng vận động của vỏ não.

Tiêu bản cắt mỏng 8 μm đến 15 μm và nhuộm gallo-cyanin hoặc nhuộm Nissl.

* Số tiêu bản tối thiểu phải kiểm tra như sau:

12 tiêu bản đại diện cho vùng phình lưng.

10 tiêu bản đại diện cho vùng phình cổ.

2 tiêu bản vùng hành tủy.

1 tiêu bản vùng cầu não và tiểu não.

1 tiêu bản não giữa.

Đôi thị phải và trái, mỗi bên 1 tiêu bản.

Vỏ não bán cầu phải và trái mỗi bên 1 tiêu bản.

Cho điểm hoạt tính virus trên tiêu bản

Dùng phương pháp cho điểm theo mức độ tổn thương để đánh giá hoạt tính của virus trong từng nửa tiêu bản. Kiểu tổn thương như là thâm nhiễm tế bào hoặc phá hủy tế bào thần kinh đều quan trọng, các tổn thương được cho điểm như sau:

Điểm 1 - Chỉ có thâm nhiễm tế bào (điểm này không đủ để tính là khi dương tính).

Điểm 2 - Thâm nhiễm tế bào và có hủy hoại noron tối thiểu.

Điểm 3 - Thâm nhiễm tế bào với hủy hoại nhiều noron.

Điểm 4 - Hủy hoại nhiều noron có hoặc không có thâm nhiễm tế bào.

Ghi điểm và báo cáo theo biểu mẫu chuẩn.

Khi có tổn thương noron nhưng không có vết tiêm vẫn được coi là khi (+).

Khi có vết tiêm trên tiêu bản nhưng không có tổn thương noron là khi (-).

Tiêu bản có tổn thương do tiêm nhưng không có tổn thương virus đặc hiệu thì không tính điểm.

Đọc và cho điểm từng nửa tiêu bản (NTB) của vùng thất lưng (L); cổ (C); não (B).

Điểm tổn thương của từng con khi dương tính được tính như sau:

$$LS = \frac{\frac{\text{Tổng số điểm L}}{\text{Tổng số NTB}} + \frac{\text{Tổng số điểm C}}{\text{Tổng số NTB}} + \frac{\text{Tổng số điểm B}}{\text{Tổng số NTB}}}{3}$$

Đánh giá thử nghiệm độc tính thần kinh

Dựa trên hoạt tính ở vùng phình lưng và mức độ lan truyền lên vùng phình cổ và não, so sánh hoạt tính giữa vắc xin thử và mẫu chuẩn.

Việc xuất xương hoặc hủy bỏ vắc xin dựa trên điểm tổng thể của toàn bộ súc vật thử nghiệm. Những khi có hoạt tính cao khác thường hoặc ở vùng thất lưng hoặc ở mức độ lan truyền đều phải tính đến trong đánh giá cuối cùng.

Bán thành phẩm đã lọc đạt tiêu chuẩn nếu số khi dương tính đạt yêu cầu và không có khác biệt đáng kể về lâm sàng cũng như tổ chức học giữa vắc xin thử và mẫu chuẩn.

15.21 XÁC ĐỊNH CÔNG HIỆU CỦA VẮC XIN BẠI LIỆT UỐNG

Xác định công hiệu (hiệu giá) của vắc xin bại liệt uống gồm 2 nội dung:

Xác định hiệu giá virus trong vắc xin bán thành phẩm (đơn týp).

Xác định hiệu giá virus trong vắc xin thành phẩm (tam liên).

Xác định hiệu giá virus trong vắc xin bán thành phẩm (đơn týp)

Nguyên tắc

Công hiệu của vắc xin phòng bại liệt uống được xác định bởi liều gây hủy hoại 50 % tế bào cảm thụ Hep-2 Cincinnati (CCID₅₀) trong phương pháp vi lượng.

Tiến hành

Pha loãng bậc 10 mẫu chuẩn và vắc xin cần thử từ 10⁻¹ đến 10⁻⁸ bằng môi trường duy trì tế bào.

Cho 0,1 ml các đậm độ virus vào mỗi giếng của phiến nhựa, mỗi đậm độ dùng từ 8 giếng đến 10 giếng.

Cho 0,1 ml hỗn dịch tế bào chứa 1.10⁴ tế bào Hep-2 vào mỗi giếng.

Đậy nắp phiến nhựa và cho các phiến nhựa vào tủ CO₂, nhiệt độ nuôi cấy là 36 °C trong 7 ngày.

Theo dõi

Theo dõi sự hủy hoại của tế bào từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 7.

Tính kết quả

Đọc kết quả cuối cùng vào ngày thứ 7 và xử lý số liệu theo phương pháp thống kê Reed-Muench hoặc Karber.

Thí nghiệm có giá trị nếu hiệu giá của vắc xin mẫu chuẩn sai số $\pm 0,5$ so với hiệu giá đã biết (tính theo log₁₀ hiệu giá).

Xác định hiệu giá của vắc xin bại liệt uống trong thành phẩm tam liên

Nguyên tắc

Vắc xin bại liệt uống tam liên bao gồm 3 týp virus bại liệt sống giảm độc, do đó cần xác định hiệu giá của từng týp thành phần (týp 1, týp 2, týp 3) và hiệu giá tổng cả 3 týp (týp 1 + týp 2 + týp 3). Muốn chuẩn độ hiệu giá của từng týp phải dùng kháng huyết thanh (KHT) đặc hiệu để trung hoà 2 týp còn lại. Hiệu giá của vắc xin Sabin được tính bằng lượng virus Sabin gây hủy hoại 50 % tế bào cảm thụ trong 1 liều dùng cho người (số CCID₅₀/0,1 ml) (CCID₅₀ Cell Culture Infective Dose).

Các bước tiến hành

Pha loãng bậc 0,5 log₁₀ vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin thử bằng môi trường duy trì.

Pha hỗn dịch kháng huyết thanh số 1 chứa kháng huyết thanh týp 2 và týp 3.

Pha hỗn dịch kháng huyết thanh số 2 chứa kháng huyết thanh týp 1 và týp 3.

Pha hỗn dịch kháng huyết thanh số 3 chứa kháng huyết thanh týp 1 và týp 2.

Cho 0,05 ml/giếng hỗn dịch kháng huyết thanh số 1 vào phiên số 1 (xác định hiệu giá týp 1).

Cho 0,05 ml/giếng hỗn dịch kháng huyết thanh số 2 vào phiên số 2 (xác định hiệu giá týp 2).

Cho 0,05 ml/giếng hỗn dịch kháng huyết thanh số 3 vào phiên số 3 (xác định hiệu giá týp 3).

Cho 0,05 ml/giếng môi trường duy trì vào tất cả các giếng của phiên số 4 (xác định hiệu giá tổng).

Cho 0,05 ml của từng độ pha loãng vắc xin vào các dãy tương ứng của cả 4 phiên, mỗi độ pha loãng gây nhiễm 8 giếng. Bắt đầu gây nhiễm từ độ pha loãng cao nhất.

Thêm 0,05 ml môi trường duy trì vào các giếng chứng huyết thanh (SC - serum control) và chứng tế bào (CC- cell control).

Đậy nắp phiên cho vào tủ ấm CO₂. Trong trường hợp để tủ ấm thường thì gói kín trong giấy bạc hoặc trong túi nilông.

Ủ ở nhiệt độ 36 °C trong vòng 3 giờ để virus và kháng huyết thanh đặc hiệu kết hợp với nhau.

Chuẩn bị hỗn dịch tế bào Hep-2 nồng độ 1 - 2 × 10⁵/ml rồi cho 0,1 ml hỗn dịch này vào toàn bộ các giếng của cả 4 phiên. Nồng độ này thường đảm bảo tế bào sẽ mọc thành 1 lớp trên phiên trong vòng 2 ngày đến 3 ngày.

Đậy nắp phiên rồi cho vào tủ ấm CO₂. Trong trường hợp để ở tủ ấm thường thì dán kín bằng màng dán phiên (microtest film).

Ủ ở 36 °C trong 7 ngày.

Theo dõi và tính kết quả

Theo dõi sự hủy hoại của tế bào và tính kết quả như đã trình bày ở phần trên. Tế bào ở các giếng chứng huyết thanh và chứng tế bào phải phát triển tốt.

Vắc xin thành phẩm coi như đạt yêu cầu nếu:

Týp 1 có ít nhất 10^{6,0} CCID₅₀/0,1ml

Týp 2 có ít nhất 10^{5,0} CCID₅₀/0,1ml

Týp 3 có ít nhất 10^{5,5} CCID₅₀/0,1ml

Toàn bộ qui trình xác định công hiệu của vắc xin bại liệt uống phải được tiến hành trong điều kiện vô khuẩn.

15.22 XÁC ĐỊNH CÔNG HIỆU CỦA GIẢI ĐỘC TỔ UỐN VÁN HOẶC THÀNH PHẦN UỐN VÁN TRONG VẮC XIN DTWP HẤP PHỤ

Công hiệu của giải độc tố uốn ván hoặc thành phần uốn ván trong vắc xin DTWP được xác định bằng phương pháp so sánh liều hữu hiệu 50 % (ED₅₀) của vắc xin chuẩn và vắc xin thử. Kết quả được tính theo phương pháp Probit analysis (phần mềm WHO program).

MIỄN DỊCH

Sử dụng ít nhất 4 độ pha loãng bậc 2 nhưng không quá 5 độ pha cho cả vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử.

Pha vắc xin

Vắc xin được pha thành các độ pha loãng khác nhau bằng nước muối sinh lý vô khuẩn sao cho giá trị ED₅₀ không nằm ra ngoài các độ pha của vắc xin.

Pha vắc xin chuẩn

Hoàn nguyên và pha loãng trong nước muối sinh lý ống vắc xin mẫu chuẩn quốc gia cho ít nhất 4 độ pha loãng bậc 2; tùy theo số đơn vị ghi trên nhãn pha sao cho ED₅₀ của vắc xin mẫu chuẩn nằm trong khoảng của 4 độ pha loãng (Ví dụ: 4 độ pha loãng bậc 2 tương ứng với 10 IU/ 0,5 ml; 5 IU/0,5 ml; 2,5 IU/0,5 ml; 1,25 IU/0,5 ml).

Ví dụ cách pha như sau:

Vắc xin chuẩn quốc gia chứa 360 IU/ ống được hoàn nguyên trong 9 ml nước muối sinh lý (NMSL) để có dung dịch (*) chứa 40 IU/ml.

A = 1/2 = 9 ml (*) + 9 ml NMSL

B = 1/4 = 9 ml (A) + 9 ml NMSL

C = 1/8 = 9 ml (B) + 9 ml NMSL

D = 1/16 = 9 ml (C) + 9 ml NMSL

Pha vắc xin thử

Ví dụ đối với giải độc tố uốn ván :

A = 1/15 = 2 ml (*) + 28 ml NMSL

B = 1/30 = 10 ml (A) + 10 ml NMSL

C = 1/60 = 10 ml (B) + 10 ml NMSL

D = 1/120 = 10 ml (C) + 10 ml NMSL

Ví dụ đối với thành phần uốn ván trong vắc xin DTWP :

A = 1/25 = 1 ml (*) + 24 ml NMSL

B = 1/50 = 10 ml (A) + 10 ml NMSL

C = 1/100 = 10 ml (B) + 10 ml NMSL

D = 1/200 = 10 ml (C) + 10 ml NMSL

Tiêm miễn dịch

Mỗi độ pha của vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử được tiêm dưới da ít nhất cho 16 chuột nhắt trắng khỏe mạnh, 4 đến 5 tuần tuổi, có trọng lượng 14 g đến 16 g, mỗi con 0,5 ml. Dùng chuột cùng giống; nếu không cùng giống phải chia đều số chuột đực, cái vào các nhóm và nhốt riêng.

Sau tiêm miễn dịch, chăm sóc và theo dõi chuột trong 28 ngày và tiến hành tiêm thử thách.

TIÊM THỬ THÁCH

Xác định liều độc tố thử thách

Chỉ sử dụng độc tố có ít nhất 10.000 LD₅₀/Lf. Độc tố được pha loãng để có các độ pha như: 0,0004 Lf/ ml; 0,0002 Lf/ ml; 0,0001 Lf/ ml và 0,00005 Lf/ ml. Mỗi độ pha tiêm cho một nhóm gồm 5 con chuột nhắt trắng, mỗi con có trọng lượng 16 g ± 0,3 g.

Theo dõi chuột hàng ngày trong 96 giờ, ghi lại số chuột còn sống trong mỗi độ pha.

Độ pha loãng độc tố gây chết 50 % số chuột vào ngày thứ 4 (sau 96 giờ) được tính là 1 LD₅₀.

Tiêm thử thách

Dựa vào kết quả LD₅₀ được xác định ở trên để độ pha dung dịch độc tố thử thách tương ứng với 50 LD₅₀/ml trong dung dịch Jensen vô khuẩn có 1 % pepton.

Sau 28 ngày toàn bộ chuột đã miễn dịch bởi vắc xin mẫu chuẩn và mẫu thử được tiêm dưới da 0,5 ml với liều độc tố thử thách chứa 50 LD₅₀.

Nhóm chuột chứng: Từ dung dịch độc tố thử thách pha thành 3 độ pha 2 LD₅₀, 1 LD₅₀, 0,5 LD₅₀. Mỗi độ pha tiêm cho 5 chuột nhất trắng có trọng lượng 16 g ± 0,3 g.

Theo dõi chuột

Theo dõi chuột thử thách hàng ngày trong 5 ngày. Ghi lại số chuột sống, chết, liệt ở mỗi độ pha miễn dịch của cả vắc xin mẫu thử và mẫu chuẩn.

Triệu chứng liệt uốn ván:

Liệt cứng hoặc co giật kích động (sau thử thách 2 ngày). Chuột đi nhón cao chân và chân sau liệt co cứng tiếp đến 2 chân trước. Khi nắm vào chuột cảm thấy rất cứng do các cơ bị co cứng, cổ cong vẹo về phía lưng. Khi kích thích bằng tiếng động như quẹt bút trên nắp thanh lồng chuột, những chuột này sẽ phản ứng bằng cách co cứng. Chuột chết do co cứng các cơ hô hấp, các triệu chứng liệt này rất đau.

TÍNH KẾT QUẢ

Dựa vào số chuột sống sót trong mỗi độ pha, công hiệu được xác định bằng phương pháp Probit analysis (Phần mềm WHO program).

Thử nghiệm có giá trị nếu:

* Liều thử thách: Khi tiêm cho các nhóm chuột đối chứng.

2 LD₅₀: 4 chuột chết hết trong thời gian 96 giờ theo dõi.

0,5 LD₅₀: Không có chuột chết trong thời gian 96 giờ theo dõi.

1 LD₅₀: Chuột chết ít nhất 1 con và không quá 3 con trong thời gian 96 giờ theo dõi.

* ED₅₀ của mỗi loạt vắc xin phải nằm giữa liều miễn dịch nhỏ nhất và lớn nhất.

* Đường độc đáp ứng miễn dịch của vắc xin thử và vắc xin chuẩn không có sự chênh lệch có ý nghĩa từ đường thẳng và đường song song nghĩa là kết quả thử nghiệm này phải đạt yêu cầu đặt ra trong chương trình Probit analysis đối với đường thẳng và đường song song của tương quan đáp ứng liều.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Tiêu chuẩn công hiệu của thành phần uốn ván trong vắc xin DTWP khi kiểm tra trên chuột lang phải không ít hơn

40 IU trong 1 liều đơn vắc xin cho người với điều kiện khoảng tin cậy 95 % của công hiệu tìm được nằm trong giới hạn 50 % đến 200 %, hoặc khi giới hạn dưới của khoảng tin cậy 95 % của công hiệu tính được phải lớn hơn 40 IU trong liều đơn vắc xin cho người.

Tiêu chuẩn công hiệu của thành phần uốn ván trong vắc xin DTWP khi kiểm tra trên chuột nhất phải đạt 60 IU trong 1 liều đơn cho người. Khoảng tin cậy 95 % của công hiệu phải nằm trong khoảng 50 % đến 200 %. Nếu khoảng tin cậy 95 % vượt ra ngoài khoảng 50 % đến 200 %, thì giới hạn dưới của khoảng tin cậy của công hiệu phải lớn hơn 60 IU trong liều đơn vắc xin cho người.

Nếu thử nghiệm không đạt các tiêu chuẩn trên, phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu thử gấp đôi (thử nghiệm lần 1 có giá trị - valid test) hoặc bằng số lượng mẫu lần 1 (thử nghiệm lần 1 không có giá trị - invalid test).

Loạt vắc xin DTWP hấp phụ đạt yêu cầu về công hiệu thành phần uốn ván nếu lần thử nghiệm nhắc lại cho kết quả công hiệu đạt yêu cầu như trên.

Nếu kết quả thử nghiệm nhắc lại không đạt yêu cầu trên thì loạt vắc xin DTWP hấp phụ đó bị coi là không đạt công hiệu thành phần uốn ván và phải hủy bỏ.

15.23 XÁC ĐỊNH CÔNG HIỆU GIẢI ĐỘC TÓ BẠCH HẦU HOẶC THÀNH PHẦN BẠCH HẦU TRONG VẮC XIN PHỐI HỢP, HẤP PHỤ

Xác định công hiệu của giải độc tố bạch hầu hoặc thành phần bạch hầu trong vắc xin phối hợp, hấp phụ được xác định bằng 1 trong 2 phương pháp: Thử thách trên chuột lang hoặc chuẩn độ huyết thanh chuột nhất trên tế bào Vero.

PHƯƠNG PHÁP THỬ THÁCH TRÊN CHUỘT LANG

Miễn dịch cho chuột

Sử dụng ít nhất 3 độ pha loãng bậc 2 (nhưng không quá 5 độ pha) cho cả vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin thử. Mỗi độ pha dùng ít nhất 15 chuột lang khỏe mạnh, 3 đến 5 tuần tuổi, chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích nào trước đó. Trọng lượng chuột 250 g/con đến 350 g/con. Có thể sử dụng chuột khác giới nhưng phải phân chia đều cho các độ pha vắc xin và nhốt riêng lồng.

Các vắc xin được pha bằng nước muối sinh lý vô khuẩn và lựa chọn các độ pha sao cho ED₅₀ trung bình không nằm ngoài các độ pha loãng của vắc xin. Mỗi chuột trong các nhóm miễn dịch được tiêm dưới da 1 ml huyền dịch của độ pha vắc xin tương ứng. Thời gian miễn dịch là 28 ngày.

Chọn ra 3 nhóm chuột đối chứng, mỗi nhóm 4 con đến 6 con, không tiêm gì và nuôi song song với các nhóm chuột miễn dịch bởi vắc xin.

Ví dụ pha vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử như sau:

Vắc xin bạch hầu mẫu chuẩn chứa 180 IU/ống được hoàn nguyên trong 18 ml nước muối sinh lý (NMSL), pha thành ít nhất 3 độ pha loãng bậc 2 để có các độ pha tương ứng với 10 IU/ ml; 5 IU/ ml và 2,5 IU/ ml như sau:

A (1/18) = 1 ống vắc xin mẫu chuẩn + 18 ml

B (1/36) = 9 ml A + 9 ml NMSL

C (1/72) = 9 ml B + 9 ml NMSL

Vắc xin mẫu thử cũng được pha thành ít nhất 3 độ pha loãng bậc 2 bằng nước muối sinh lý vô khuẩn như sau:

A (1/20) = 1 ml vắc xin + 19 ml NMSL

B (1/40) = 9 ml A + 9 ml NMSL

C (1/80) = 9 ml B + 9 ml NMSL

Thử thách

Độc tố bạch hầu dùng cho thử thách phải có ít nhất 10.000 LD₅₀/Lf. Sau 4 tuần, toàn bộ chuột lang đã tiêm miễn dịch được tiêm thử thách dưới da bởi độc tố bạch hầu với liều 50 LD₅₀/ml.

Pha loãng độc tố bạch hầu để có dung dịch chứa 1 LD₅₀, dùng tiêm cho nhóm chuột đối chứng, mỗi con 1 ml/dưới da.

Theo dõi chuột hàng ngày trong 5 ngày, ghi lại số chuột sống và chết trong mỗi độ pha miễn dịch và các nhóm chuột đối chứng.

Tính kết quả

Căn cứ vào số chuột sống sót trong mỗi độ pha vắc xin vào ngày thứ 5 sau khi thử thách, công hiệu vắc xin được xác định bằng phương pháp Probit analysis.

Vắc xin đạt yêu cầu về công hiệu bạch hầu nếu có không ít hơn 30 IU trong một liều đơn vắc xin cho người với điều kiện 95 % khoảng tin cậy của công hiệu tìm được nằm trong giới hạn từ 50 % đến 200 %, hoặc khi giới hạn cận dưới của 95 % khoảng tin cậy của công hiệu ≥ 30 IU trong một liều đơn vắc xin cho người.

Thử nghiệm có giá trị khi

Liều thử thách chứng minh chứa xấp xỉ 50 LD₅₀.

Giá trị ED₅₀ trung bình của vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin thử nằm trong khoảng giữa liều miễn dịch thấp nhất và cao nhất.

Thử nghiệm cần đáp ứng được tiêu chuẩn về tính tuyến tính và tính song song giữa liều miễn dịch và sự đáp ứng của chuột giữa vắc xin chuẩn và mẫu thử.

CHUẨN ĐỘ HUYẾT THANH CHUỘT NHẤT TRÊN TẾ BÀO VERO

Miễn dịch cho chuột

Mỗi vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử được tiến hành 4 độ pha loãng bậc 2. Các vắc xin được pha loãng bởi nước muối sinh lý vô khuẩn. Lựa chọn các

độ pha vắc xin căn cứ vào hàm lượng giải độc tố bạch hầu có trong từng loại vắc xin.

Mỗi độ pha dùng ít nhất 8 chuột nhất trắng khỏe mạnh, chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích nào trước đó. Trọng lượng chuột 12 g/con đến 14 g/con, 3 đến 4 tuần tuổi, cùng giới (nếu khác giới phải phân đều cho các độ pha khác nhau và nhốt riêng lồng).

Mỗi chuột trong từng nhóm được tiêm dưới da 0,5 ml huyền dịch vắc xin tương ứng với từng độ pha của vắc xin mẫu thử và mẫu chuẩn. Thời gian miễn dịch là 5 tuần.

Ví dụ: Pha vắc xin mẫu chuẩn và thử như sau:

Vắc xin bạch hầu mẫu chuẩn chứa 688 IU được hoàn nguyên trong 8 ml nước muối sinh lý để có hỗn dịch (*) chứa 88 IU/ ml. Tiếp tục pha loãng bậc 2 để có 4 độ pha A - B - C - D như sau:

A (1/2) = 8 ml (*) + 8 ml NMSL

B (1/4) = 8 ml A + 8 ml NMSL

C (1/8) = 8 ml B + 8 ml NMSL

D (1/16) = 8 ml C + 8 ml NMSL

Ví dụ vắc xin thử pha như sau:

A (1/5) = 4 ml vắc xin + 16 ml NMSL

B (1/10) = 8 ml A + 8 ml NMSL

C (1/20) = 8 ml B + 8 ml NMSL

D (1/40) = 8 ml C + 8 ml NMSL

Lấy máu và thu thập huyết thanh chuột miễn dịch

Sau khi tiêm miễn dịch 5 tuần, mỗi chuột được lấy máu riêng rẽ (lấy máu tim bằng bơm tiêm loại 1 ml vô trùng) và tách lấy huyết thanh miễn dịch. Huyết thanh được bất hoạt ở 56 °C trong 30 phút. Sau đó có thể giữ các mẫu huyết thanh chuột miễn dịch ở nhiệt độ -20 °C cho đến khi chuẩn độ huyết thanh trên tế bào.

Chuẩn độ kháng thể kháng bạch hầu trên tế bào Vero

Chuẩn bị tế bào Vero

Chuẩn bị môi trường M199

Môi trường M199 bột khô hòa tan trong nước cất 2 lần. Điều chỉnh đến pH 7,0 - 7,2 bằng dung dịch natri bicarbonat. Môi trường nuôi cấy tế bào có chứa penicilin và streptomycin và 5 % đến 10 % huyết thanh bào thai bê.

Nuôi tế bào Vero

Tế bào Vero giữ trong nitrogen lỏng được lấy ra và làm tan bằng nhanh dưới vòi nước. Ly tâm loại bỏ phần nước. Cặn được hòa trong môi trường M199 và nuôi trong chai nhựa 25 cm² ở 35 °C. Sau 4 đến 6 ngày, khi tế bào mọc kín thành một lớp, dùng dung dịch trypsin 0,25 % tách tế bào và cấy chuyển qua chai nuôi tế bào 75 cm². Tiếp tục ủ ở 35 °C trong 4 ngày đến 6 ngày. Khi tế bào mọc kín thành một lớp, dùng dung dịch trypsin 0,25 % tách tế bào. Pha thành hỗn dịch tế bào có đậm độ là $2,5 \times 10^5$ tế bào/ml dùng để chuẩn độ.

Tìm liều độc tố bạch hầu ức chế tế bào Lm/10 000

Liều độc tố Lm/10 000 là liều độc tố tối thiểu sau khi trung hòa với 0,0001 IU kháng độc tố bạch hầu còn khả năng ức chế sự phát triển của tế bào Vero.

Xác định liều Lm/10 000 của độc tố bạch hầu bằng phương pháp sau đây:

Độc tố bạch hầu chuẩn được pha loãng thành nhiều nồng độ khác nhau trong môi trường M199 để có nồng độ khoảng 0,2 Lf/ml.

Pha loãng độc tố bạch hầu 0,2 Lf/ml trên phiên chuẩn độ từ cột 1 đến 11.

Thêm huyết thanh chuẩn kháng bạch hầu có nồng độ 0,002 IU/ml vào các giếng trên.

Sau khi ủ phiên 1 giờ ở nhiệt độ phòng, thêm vào tất cả các giếng dung dịch tế bào vero có nồng độ $2,5 \times 10^5$ tế bào/ml.

Lắc nhẹ và dán kín phiên bằng giấy dán phiên.

Ủ ở 35 °C trong 5 ngày đến 6 ngày.

Đọc kết quả và tính liều Lm/10 000 của độc tố bạch hầu.

Chuẩn độ kháng thể kháng bạch hầu trên tế bào Vero
Tiến hành

Mỗi phiên dùng để chuẩn độ 8 mẫu huyết thanh của 1 độ pha vắc xin.

Cho 50 µl môi trường M199 vào tất cả các giếng của phiên (trừ giếng A₁₁ và A₁₂). Riêng giếng G₁₁, G₁₂, H₁₁, H₁₂ cho 100 µl.

Lấy 8 mẫu huyết thanh chuột đã tiêm miễn dịch của mỗi độ pha vắc xin cho lần lượt vào các giếng từ A₁ đến H₁, mỗi giếng 50 µl. Pha loãng bậc 2 từ dãy số 1 đến dãy số 10.

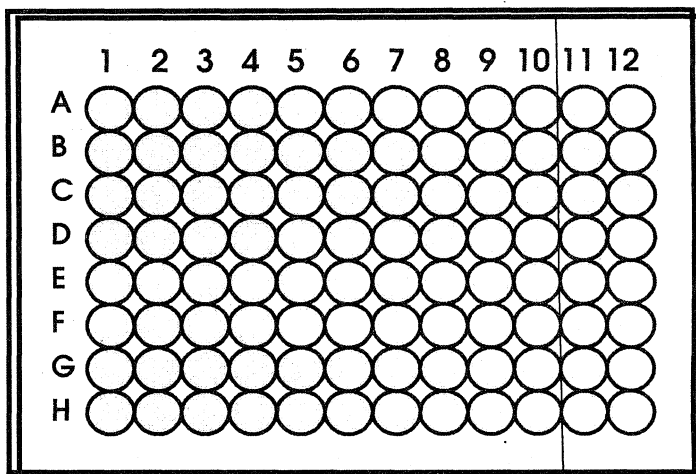
Huyết thanh chuẩn kháng bạch hầu có 10 IU/ml pha thành 0,08 IU/ml (**).

Cho 50 µl huyết thanh (**) vào các giếng A₁₁, A₁₂ và B₁₁, B₁₂. Từ B₁₁ và B₁₂ pha loãng bậc 2 xuống C₁₁, C₁₂ và D₁₁, D₁₂; sau khi pha loãng và trộn đều ở các giếng D₁₁, D₁₂ thì bỏ đi 50 µl ở mỗi giếng trong 2 giếng này.

Pha độc tố chuẩn để có liều Lr/10 000, cho 50 µl độc tố vào tất cả các giếng trừ giếng G₁₁, G₁₂, H₁₁, H₁₂ (chứng tế bào).

Lắc phiên và ủ 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Cho thêm vào các giếng 50 µl hỗn dịch tế bào có đậm độ $2,5 \times 10^5$ tế bào/ml.

Dán kín phiên bằng màng dán phiên và để ở 35 °C trong 5 ngày đến 6 ngày. Đọc kết quả.

**Cách đọc và tính kết quả**

Có thể đọc kết quả bằng cách trực tiếp soi các giếng chuẩn độ dưới kính hiển vi phản pha hoặc dựa vào việc đổi màu để phân biệt giếng “âm tính” và “dương tính”. Sự thay đổi màu từ đỏ sang vàng được coi như không có sự ức chế trao đổi chất do các độc tố đã bị trung hòa bởi các kháng thể kháng độc tố. Hiệu giá kháng thể được tính theo điểm là giếng cuối cùng vẫn còn tế bào mọc (môi trường có màu vàng).

Căn cứ vào số giếng “dương tính”, tính kết quả theo phương pháp Parallel line.

Thử nghiệm có giá trị khi

Giếng A₁₁- D₁₁ và A₁₂ - D₁₂ cho thấy rõ liều Lr/10 000 được pha đúng: Sau 6 ngày không xảy ra sự ức chế trao đổi chất ở giếng A₁₁ và 12 và B₁₁ và 12 (màu vàng). Ngược lại có xảy ra sự ức chế trao đổi chất ở giếng C₁₁ và 12 và D₁₁ và 12 (màu đỏ).

Sự ức chế trao đổi chất sẽ xảy ra ở giếng E₁₁ và 12 và F₁₁ và 12 (màu đỏ) là những giếng chứng độc tố (không có kháng huyết thanh để trung hòa độc tố nên độc tố đã gây hủy hoại tế bào).

Ở các giếng G₁₁ và 12 và H₁₁ và 12 các tế bào phát triển bình thường và môi trường có màu vàng, đó là những giếng chứng tế bào (không có độc tố và kháng huyết thanh bạch hầu).

Thử nghiệm phải đạt được các tiêu chuẩn đặt ra trong thử nghiệm Parallel line nghĩa là phải tạo được đường thẳng và đường song song trong mỗi tương quan đáp ứng liều.

Giá trị của vắc xin chuẩn (điểm trung bình của các độ pha loãng) sẽ phải nằm trong giá trị trung bình tích lũy $\pm 2SD$ của tất cả các thí nghiệm tiến hành trước đó.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Vắc xin đạt yêu cầu về công hiệu bạch hầu nếu có không ít hơn 30 IU trong một liều đơn vắc xin cho người với điều kiện 95 % khoảng tin cậy của công hiệu tìm được nằm trong giới hạn từ 50 % đến 200 %, trừ khi

giới hạn cận dưới của 95 % khoảng tin cậy của công hiệu ≥ 30 IU trong liều đơn vắc xin cho người.

Nếu kết quả không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm có giá trị (valid test) thì phải nhắc lại thử nghiệm trên mẫu huyết thanh miễn dịch còn lưu và làm thử nghiệm kép. Kết quả sẽ là giá trị trung bình của 2 thử nghiệm nhắc lại. Nếu thử nghiệm nhắc lại đạt yêu cầu thì loạt vắc xin được coi là đạt công hiệu thành phần bạch hầu. Nếu thử nghiệm nhắc lại không đạt yêu cầu, loạt vắc xin bị coi là không đạt công hiệu thành phần bạch hầu và phải hủy bỏ.

Nếu kết quả không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm không có giá trị (invalid test) thì chỉ cần nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số lượng chuột bằng lần 1 (trình tự thử nghiệm lặp lại giống lần 1). Nếu ở lần thử nghiệm nhắc lại vẫn không đạt yêu cầu thì loạt vắc xin bị coi là không đạt yêu cầu về công hiệu thành phần bạch hầu và phải hủy bỏ.

15.24 XÁC ĐỊNH CÔNG HIỆU THÀNH PHẦN HO GÀ TOÀN TẾ BẢO TRONG VẮC XIN PHỐI HỢP, HẤP PHỤ

Công hiệu của vắc xin ho gà trong vắc xin DTP được xác định bằng cách so sánh liều hữu hiệu 50 % (ED_{50}) của vắc xin mẫu chuẩn so với vắc xin mẫu thử. Kết quả được tính bằng phương pháp Probit analysis (phần mềm WHO program).

Pha vắc xin

Vắc xin mẫu chuẩn

Lấy một ống vắc xin mẫu chuẩn, hoàn nguyên bằng nước muối sinh lý vô khuẩn và tiếp tục pha loãng tùy theo số đơn vị ghi trên nhãn, dùng nước muối sinh lý pha thành ít nhất 3 độ pha loãng bậc 5 thành các độ pha sao cho sau khi thử thách ED_{50} nằm giữa 3 độ pha loãng, ví dụ theo sơ đồ dưới đây:

A = 1/30 =	1 ống mẫu chuẩn	+30 ml NMSL
B = 1/150 =	5 ml A	+20 ml NMSL
C = 1/750 =	5 ml B	+20 ml NMSL

Vắc xin DTP mẫu thử

A = 1/5 =	5 ml vắc xin mẫu thử	+20 ml NMSL
B = 1/25 =	5 ml dung dịch A	+20 ml NMSL
C = 1/125 =	5 ml dung dịch B	+20 ml NMSL

Tiêm miễn dịch

Chọn chuột nhất trắng có trọng lượng 14 g đến 18 g, nhưng các chuột trong một thử nghiệm không được chênh lệch trọng lượng quá 4 g. Dùng chuột cùng giới, nếu khác giới phải chia đều số chuột đực, cái vào các nhóm và nhốt riêng.

Chuột được tiêm miễn dịch sau khi đã được ăn uống đầy đủ 1 giờ. Tiêm ổ bụng 0,5 ml/1 chuột. Mỗi độ pha

vắc xin tiêm cho một nhóm chuột, số lượng chuột trong mỗi nhóm tùy theo kết quả thẩm định thử nghiệm nhưng không được ít hơn 20 chuột. Tiêm miễn dịch theo thứ tự từ độ pha loãng nhất (từ độ pha C đến A) cho cả loạt vắc xin mẫu thử và mẫu chuẩn.

Bốn nhóm chuột đối chứng: Mỗi nhóm 10 con, được nuôi song song với nhóm chuột miễn dịch dùng để kiểm chứng độc lực của chủng thử thách.

Trong thời gian miễn dịch (14 ngày đến 17 ngày), chuột phải khỏe và tăng trọng bình thường, ít nhất 94 % số chuột đã được miễn dịch ở mỗi độ pha của cả vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin thử nghiệm phải được sống sót cho đến ngày thử thách.

Tiêm thử thách

Sau 14 ngày đến 17 ngày miễn dịch, chuột được thử thách với chủng *B. pertussis* 18323. Chủng thử thách có thể dùng chủng tươi hoặc chủng ở dạng huyền dịch (10 tỷ vi khuẩn ho gà) được bảo quản trong nitơ lỏng. Chủng thử thách được pha trong dung dịch casein 1 %. LD_{50} của chủng thử thách phải nằm trong khoảng 100 đến 1000 vi khuẩn.

Cách pha dung dịch casein 1 %

Hòa tan 10 g bột casein trong 1000 ml nước cất 2 lần, cho thêm 2,3 g natri clorid. Điều chỉnh đến pH 7 - 7,2 bằng dung dịch natri hydroxyd hoặc acid hydrochloric loãng. Hấp 121 °C trong 30 phút.

Dung dịch casein 1 % phải được kiểm tra an toàn bằng cách tiêm vào não cho 5 chuột nhất, mỗi con 0,02 ml. Theo dõi 3 ngày, toàn bộ chuột thí nghiệm phải sống. Nếu có 1 chuột chết phải pha lại dung dịch.

Cách pha hỗn dịch vi khuẩn để kiểm tra liều LD_{50} và để thử thách

Chủng *B. pertussis* 18323 được cấy truyền đời 2 hoặc đời 3 trên môi trường Bordet - Gengou có chứa 15 % máu cừu hoặc ngựa, huyền dịch vi khuẩn ho gà gặt từ nuôi cấy 20 giờ đến 22 giờ được dùng để pha thành hỗn dịch thử thách hoặc sử dụng huyền dịch vi khuẩn ho gà đậm độ 10 tỷ vi khuẩn/ml đã bảo quản trong nitơ lỏng để pha dung dịch thử thách. Trong khi pha cũng như trong khi tiêm thử thách, hỗn dịch vi khuẩn ho gà phải giữ trong đá lạnh. Thời gian bắt đầu pha đến khi tiêm xong hỗn dịch vi khuẩn thử thách không được quá 150 phút. Xác định đậm độ vi khuẩn ho gà bằng mắt thường khi so với ống độ đục chuẩn quốc tế 10 IOU hoặc đo OD bằng máy quang phổ kế để tính số vi khuẩn ho gà trong hỗn dịch gặt. Pha loãng huyền dịch vi khuẩn ho gà bằng casein 1 % để có nồng độ là 10×10^9 vi khuẩn/ml (*). Nếu sử dụng chủng ho gà được bảo quản trong nitơ lỏng thì phải làm tan băng nhanh trước khi thử thách. Các độ pha loãng của chủng ho gà được pha theo sơ đồ dưới đây trong dung dịch casein 1 %:

Ví dụ: Sơ đồ các độ pha loãng của chủng ho gà trong dung dịch casein 1 %

Chủng *B. pertussis* 18323 giữ trong nitrogen lỏng là $10 \times 10^9/\text{ml}$ (*) = A_0

A1	=	$5 \times 10^9 / \text{ml}$	=	1 ml A_0	+	1 ml đệm Casein 1 %
A2	=	$5 \times 10^9 / 2 \text{ ml}$	=	1 ml A1	+	1 ml đệm Casein 1 %
A3	=	$5 \times 10^6 / 0,02 \text{ ml}$	=	1 ml A2	+	9 ml đệm Casein 1 %
A4	=	$5 \times 10^5 / 0,02 \text{ ml}$	=	1 ml A3	+	9 ml đệm Casein 1 %
A5	=	100 000/0,02 ml	=	3 ml A4	+	12 ml đệm Casein 1 %
A6	=	10 000/0,02 ml	=	1 ml A5	+	9 ml đệm Casein 1 %
A7	=	2000/0,02 ml	=	1 ml A6	+	4 ml đệm Casein 1 %
A8	=	400/0,02 ml	=	1 ml A7	+	4 ml đệm Casein 1 %
A9	=	80/0,02 ml	=	1 ml A8	+	4 ml đệm Casein 1 %

Tiêm chuột

Sau 14 ngày đến 17 ngày, toàn bộ chuột đã miễn dịch bởi vắc xin mẫu chuẩn và mẫu thử được tiêm thử thách vào não, mỗi con nhận 0,02 ml hỗn dịch chứa 100 000 vi khuẩn (độ pha A5) bằng một bơm tiêm bán tự động Hamilton.

Nhóm chuột đối chứng, mỗi nhóm 10 con được tiêm với các độ pha từ A6 đến A9 tương ứng với hỗn dịch chứa 10 000 vi khuẩn; 2000 vi khuẩn; 400 vi khuẩn và 80 vi khuẩn.

Độ pha hỗn dịch chứa 80 vi khuẩn sẽ được cấy ít nhất trên 2 đĩa thạch Bordet Gengou sau khi pha xong hỗn dịch và sau khi kết thúc tiêm thử thách. Ủ đĩa thạch ở 35 °C trong 3 ngày đến 4 ngày, đếm số khuẩn lạc mọc. Thông thường số khuẩn lạc đạt khoảng 30 %.

Lưu ý:

• Trong quá trình pha và tiêm thử thách, dung dịch chủng phải luôn giữ trong đá lạnh.

• Thời gian tính từ khi bắt đầu pha chủng đến khi kết thúc thử nghiệm không được quá 2,5 giờ.

• Tất cả vật liệu chứa chủng ho gà đều phải tiệt trùng bằng nồi hấp 121 °C trong 15 phút đến 20 phút hoặc luộc sôi trong 30 phút trước khi rửa dụng cụ.

• Những chuột chết trong 3 ngày đầu sau tiêm thử thách được coi là chuột chết không mang tính đặc hiệu của ho gà. Do đó chỉ những chuột chết từ ngày thứ 4 đến ngày 14 mới được tính kết quả.

• Ngày thứ 14 sau thử thách: Tất cả những chuột chết, hay có dấu hiệu liệt rõ và sung phồng tây đầu đều được tính là chuột chết.

Tính kết quả

Dựa vào số chuột sống sót trong mỗi nhóm chứng, dùng phương pháp Reed Muench để tính LD_{50} của chủng thử thách. Xem ví dụ dưới đây:

Ví dụ:

Số Vi khuẩn	Số Chuột	Số Sống	Số Chết	Số tích lũy		Tổng số	% chết
				Sống	Chết		
10 000	10	1	9	1	22	23	95
2 000 (B)	10	3	7	4	13	17	76 (b)
400 (A)	10	6	4	10	6	16	37 (a)
80	10	8	2	8	2	20	10

Theo thí dụ trên, LD_{50} nằm trong khoảng giữa 2 liều 2000 và 400 vi khuẩn, số % chuột chết tương ứng với liều sát trên 50 % là 76 %, số % chuột chết tương ứng liều sát dưới 50 % là 37 %

Tính LD_{50} theo công thức sau :

$$\text{Lg } LD_{50} = \text{Lg } A + \frac{50 - a}{b - a} \times \text{Lg } f$$

Trong đó:

A là liều gây chết vừa sát dưới 50 % (trong ví dụ trên là 400);

a là % chết tương ứng với A (trong ví dụ trên là 37 %);

B là liều gây chết vừa sát trên 50 % (trong thí dụ trên là 2000);

b là % chết tương ứng với B (trong thí dụ trên là 76 %);

f là hệ số pha loãng (trong thử nghiệm này là pha loãng bậc 5).

Thay bằng con số cụ thể là:

$$\text{Lg } LD_{50} = \text{Lg } 400 + \frac{50 - 37}{76 - 37} \times \text{Lg } 5$$

$LD_{50} = 680$ vi khuẩn

Dùng phần mềm Probit analysis của WHO program để tính công hiệu của vắc xin ho gà.

Thử nghiệm được coi là có giá trị khi:

ED_{50} của vắc xin chuẩn và ED_{50} vắc xin thử nghiệm nằm giữa độ pha loãng nhất và độ pha đặc nhất của các vắc xin đó.

Trong suốt thời gian miễn dịch cho đến ngày thử thách số chuột trong mỗi độ pha không được chết quá 6 %.

Liều thử thách phải chứa 100 đến 1000 LD_{50} , như vậy liều LD_{50} phải chứa 100 đến 1000 vi khuẩn.

Thử nghiệm phải đạt được tiêu chuẩn của chương trình Probit Analysis đặt ra về đường thẳng và đường song song của mỗi tương quan đáp ứng liều.

Nếu kết quả công hiệu thành phần ho gà trong vắc xin DTP hấp phụ không đạt yêu cầu, thử nghiệm phải được nhắc lại:

Nếu thử nghiệm lần 1 có giá trị (valid) và đạt tiêu chuẩn chấp thuận thì vắc xin đó coi như đạt yêu cầu về công hiệu. Nhưng nếu không đạt tiêu chuẩn chấp thuận thì thử nghiệm đó phải được làm nhắc lại. Công hiệu vắc xin đạt tiêu chuẩn chấp thuận khi kết quả trung bình nhân của các lần thử nghiệm có giá trị không thấp hơn tiêu chuẩn chấp thuận cho phép.

Nếu lần 1 không đạt yêu cầu và thử nghiệm không có giá trị (invalid) thì phải làm lại thử nghiệm. Kết quả lần thử nghiệm đầu sẽ không được dùng để xem xét. Nếu kết quả lần thử nghiệm nhắc lại có giá trị và đạt tiêu chuẩn chấp thuận thì loạt vắc xin đó coi như đạt yêu cầu về công hiệu. Nếu không đạt yêu cầu thì phải làm lại như ở trên.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Vắc xin đạt yêu cầu nếu công hiệu không ít hơn 4 IU trong một liều đơn vắc xin cho người và giới hạn dưới của 95 % khoảng tin cậy của công hiệu tìm được không ít hơn 2 IU trong một liều đơn vắc xin cho người.

15.25 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG FORMALDEHYD TỒN DƯ TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý

Có hai phương pháp xác định hàm lượng formaldehyd tồn dư trong vắc xin và sinh phẩm:

Phương pháp dựa vào phản ứng tạo chất màu chinol dưới tác dụng của thuốc thử fuchsin và aldehyd hòa tan trong nước.

Định lượng formaldehyd bằng cách so màu của 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidin ở bước sóng 415 nm. Phức hợp tạo thành có màu vàng chanh do phản ứng của formaldehyd tự do trong mẫu thử với acetylacetone và amoni trong môi trường acid nhẹ.

Phương pháp tiến hành

*Phương pháp 1:

Lấy 1 ml mẫu thử, cho nước cất vừa đủ 5 ml, thêm vào 1 ml thuốc thử fuchsin acid, trộn đều; đầy ống nghiệm bằng nút cao su và đợi 1 giờ. Đo mật độ quang học của dung dịch bằng kính lọc màu tím than (bước sóng 400 nm ± 5 nm).

Tiến hành làm song song trên mẫu trắng theo trình tự như trên nhưng thay 1 ml mẫu thử bằng 1 ml nước cất. Kết quả xác định được bằng cách so màu của mẫu vắc xin thử với dung dịch chuẩn có mật độ quang học gần nhau nhất.

Dụng đường chuẩn

Lấy 1 ml formaldehyd chuẩn 0,4 % thêm nước cất vừa đủ 100 ml (dung dịch 0,004 %).

Lấy 0,5 ml, 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml, 4,0 ml, 5,0 ml dung dịch chuẩn formaldehyd 0,004 % cho vào các ống nghiệm và cho nước cất vừa đủ 5,0 ml, thêm 1,0 ml dung dịch thuốc thử. Đợi 1 giờ sau đó tiến hành phân tích như đã mô tả ở trên.

Cách pha dung dịch formaldehyd chuẩn 0,4 %: Trước khi pha tiến hành xác định sơ bộ hàm lượng formaldehyd có trong dung dịch formaldehyd (dung dịch phải chứa không ít hơn 37 % formaldehyd). Cân 1 g dung dịch formaldehyd 40 % (cân chính xác, trong trường hợp dung dịch chứa ít hơn 40 % thì phải tính toán lại cho thích hợp) cho vào một bình định mức 100 ml, cho nước cất vừa đủ tới vạch (dung dịch 0,4 %). Trước khi dùng pha loãng 100 lần.

Cách pha thuốc thử fuchsin: Hòa tan 2 g fuchsin kiềm vào 120 ml nước cất đã đun sôi, để nguội. Hòa 2 g natri sulfite (TT) vào 20 ml nước cất và trộn vào dung dịch trên, thêm 2 ml acid hydrocloric (TT). Cho nước cất vừa đủ 200 ml và chờ ít nhất 1 giờ mới đem sử dụng. Dung dịch này phải luôn luôn mới.

*Phương pháp 2:

Lấy khoảng 3 ml đến 4 ml mẫu thử ly tâm 4000 vòng/phút trong 10 phút, lấy phần nước (nếu mẫu thử trong thì không cần ly tâm). Pha loãng mẫu thử nếu cần thiết.

Lấy chính xác 3 ml mẫu thử cho vào ống nghiệm.

Dụng đường chuẩn: Pha loãng 10 lần dung dịch formaldehyd chuẩn 0,04 %, từ đó pha các dung dịch formaldehyd chuẩn 0,0002 %; 0,0004 %; 0,0008 %; 0,0012 %.

Lấy chính xác 3 ml các dung dịch chuẩn đã pha loãng vào các ống nghiệm.

Mẫu trắng dùng 3 ml nước cất.

Thêm 3 ml dung dịch acetylacetone vào mỗi ống nghiệm đựng mẫu trắng, mẫu chuẩn và mẫu thử.

Lắc đều, đun cách thủy 100 °C trong 15 phút.

Để nguội ở nhiệt độ phòng.

Tiến hành đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 415 nm.

Cách tính kết quả:

$$X = na$$

Trong đó:

X là hàm lượng formaldehyd có trong mẫu thử (%);

a là hàm lượng formaldehyd có trong mẫu thử tìm được trên đường chuẩn (%);

n là độ pha loãng mẫu.

Cách pha dung dịch formaldehyd chuẩn 0,04 %: Cân 311 mg hexamethylentetramin hòa tan trong vừa đủ 1000 ml nước cất, dung dịch có chứa 0,04 % formaldehyd, bảo quản dung dịch ở nhiệt độ phòng dùng trong 6 tháng.

Cách pha dung dịch acetylaceton: Cân 150 g amoni acetat, hòa tan trong khoảng 500 ml nước cất. Thêm 3 ml acid acetic đậm đặc, 2 ml acetylaceton vào, khuấy đều, thêm nước cất vừa đủ 1000 ml. Bảo quản dung dịch ở 2 °C đến 8 °C, dùng trong 2 tháng.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Mỗi loại vắc xin, sinh phẩm có tiêu chuẩn khác nhau. Các tiêu chuẩn này dựa theo quy định của WHO cho từng loại vắc xin và sinh phẩm. Tuy nhiên, lượng formaldehyd tồn dư trong vắc xin, sinh phẩm không được vượt quá 0,02 %.

15.26 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NATRI CLORID VỚI SỰ CÓ MẶT CỦA PROTEIN

Nguyên lý

Phương pháp dựa trên phản ứng của ion Cl⁻ với một lượng bạc nitrat thừa.

Protein trong mẫu thử được oxy hóa bằng kali permanganat trong môi trường acid.

Xác định lượng bạc nitrat thừa bằng dung dịch amoni sulfocyanid.

Phương pháp tiến hành

Hút 0,2 ml mẫu thử vào một bình nón dung tích 50 ml.

Thêm 5 ml dung dịch bạc nitrat 0,01 N.

Thêm 1 ml acid nitric đậm đặc (TT).

Thận trọng đun trên bếp cho đến khi sôi.

Thêm từng giọt dung dịch bão hòa kali permanganat cho đến khi có màu tím.

Tiếp tục đun sôi trong 5 phút.

Thêm một ít đường glucose bột để khử màu.

Trên đáy bình xuất hiện tủa trắng như bông.

Làm nguội.

Thêm 0,5 ml dung dịch phen sắt amoni bão hòa.

Chuẩn độ bạc bằng dung dịch amoni sulfocyanid 0,01 N (CĐ) cho đến khi có màu hồng.

Song song tiến hành làm mẫu trắng (thay mẫu thử là nước cất).

Lượng natri clorid có trong tiêu bản tính bằng mg % theo công thức:

$$X = \frac{(A - B) \times K \times 0,585 \times 100}{0,2}$$

Trong đó:

A là lượng ml dung dịch amoni sulfocyanid 0,01 N (CĐ) dùng để chuẩn độ mẫu trắng;

B là lượng ml dung dịch amoni sulfocyanid 0,01 N (CĐ) dùng để chuẩn độ mẫu thử;

K là hệ số điều chỉnh của dung dịch amoni sulfocyanid 0,01 N;

0,585 là lượng natri clorid tương ứng với 1 ml dung dịch amoni sulfocyanid 0,01 N (mg);

0,2 là số ml dung dịch mẫu thử đem kiểm tra;

100 là chuyển thành %.

15.27 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NHÔM Al⁺⁺⁺ TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Phương pháp 1

Nguyên lý

Phương pháp dựa trên phản ứng tạo thành phức chất của một lượng thừa dung dịch muối natri của acid ethylen diamin tetra acetic (EDTA) với ion nhôm (Al⁺⁺⁺) và sau đó chuẩn độ lượng thừa EDTA bằng dung dịch đồng sulfat 0,01 M.

Phương pháp tiến hành

Lấy 1 ml acid sulfuric đậm đặc (TT), 6 giọt acid nitric đậm đặc (TT) và 3 ml mẫu thử cho vào 1 bình nón cho đến khi thấy khói trắng dày đặc thoát ra.

Tiếp tục đun nóng và cho thêm vài giọt acid nitric đậm đặc (TT) cho đến khi dung dịch trong bình mất màu. Để nguội bình.

Thận trọng thêm 10 ml nước cất. Nếu dung dịch còn đục, đun tiếp cho đến khi trong.

Thêm dung dịch natri hydroxyd 50 % vào bình cho đến khi dung dịch có màu đỏ vàng [dùng dung dịch da cam methyl (TT) làm chất chỉ thị].

Nếu dung dịch đục, hòa tan tủa bằng cách thêm dung dịch acid sulfuric 1 M, cho thêm chính xác vào bình 25 ml dung dịch dinatri diethylen diamin tetraacetat 0,01 M (CĐ) và 10 ml dung dịch đệm acetat pH 4,4 [có chứa 68 g natri acetat (TT); 38,5 g amoni acetat (TT); 125 ml acid acetic (TT) và nước vừa đủ 500 ml]. Đun sôi nhẹ trong 3 phút.

Thêm 1 ml dung dịch chỉ thị màu pyridylazonaphтол 0,1 % trong ethanol 95 %. Khi còn nóng chuẩn độ ngay dung dịch dinatri diethylen diamin tetraacetat thừa bằng dung dịch đồng sulfat 0,01 M (CĐ) cho đến khi xuất hiện màu nâu tím, ta được A ml dung dịch đồng sulfat 0,01 M. Song song tiến hành làm mẫu trắng (thay mẫu thử bằng nước cất) được B ml dung dịch đồng sulfat 0,01 M.

1,0 ml dung dịch dinatri diethylen diamin tetraacetat 0,01 M (CĐ) tương đương với 0,2698 mg Al⁺⁺⁺.

Lượng nhôm X (Al⁺⁺⁺ mg/ml) trong mẫu thử được tính theo công thức sau:

$$X = \frac{B - A}{\text{Thể tích mẫu thử}} \times 0,2689$$

Phương pháp 2

Nguyên lý

Hàm lượng nhôm (Al⁺⁺⁺) có trong mẫu thử được xác định bằng cách so màu do phản ứng của nhôm với stilbazo. Nhôm hydroxyd có trong mẫu thử dưới tác dụng của acid nitric và nhiệt độ chuyển thành Al⁺⁺⁺.

Phương pháp tiến hành

Trước khi kiểm tra, mẫu thử được lắc đều thành hỗn dịch đồng nhất. Thêm 0,2 ml acid nitric đậm đặc vào 1 ml mẫu thử. Đun sôi cho đến khi hỗn dịch tan hoàn

toàn. Pha loãng bằng *nước cất* mẫu thử đến nồng độ thích hợp (thường pha loãng 25 và 50 lần).

Lấy 1ml mẫu thử vào bình nón, thêm *nước cất* vừa đủ 5 ml. Thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat* (pH = 5,55 - 5,75), 5 ml *dung dịch stilbazo*, 5 ml *nước cất*. Để ở nhiệt độ phòng 20 phút, đo quang ở bước sóng 510 nm.

Song song tiến hành dựng đường chuẩn với các *dung dịch nhôm chuẩn* 2, 4, 6, 8, 10 microgam/ml, tương đương với 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml *nhôm chuẩn* 2 microgam/ml. Dựa vào đường chuẩn tính ra hàm lượng nhôm có trong mẫu thử.

Song song tiến hành làm mẫu trắng: Thay mẫu thử bằng 1ml *nước cất*.

Cách pha *dung dịch nhôm chuẩn* 0,1 %: Cân chính xác 0,895 g *nhôm clorid* ($ALCL_3 \cdot 6H_2O$) hòa tan vào 100 ml *nước cất* 2 lần. Trước khi dùng pha loãng *dung dịch nhôm chuẩn* 0,1 % 500 lần bằng *nước cất*, thu được *dung dịch nhôm chuẩn* 2 microgam/ml.

Cách pha *dung dịch stilbazo* 0,035 %: Hòa tan 0,035 g *stilbazo* trong vừa đủ 100 ml *nước cất*. Lọc qua giấy lọc. *Dung dịch bảo quản* ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C sử dụng được trong 1 tuần.

Cách pha *dung dịch đệm acetat* (pH = 5,55 - 5,75):

Dung dịch A: Hòa tan 69,05 g *natri acetat* (TT) vào 500 ml *nước cất*.

Dung dịch B: Hòa 5,72 ml *acid acetic* (TT) trong vừa đủ 100 ml *nước cất*.

Trộn *dung dịch A* vào *dung dịch B* theo tỷ lệ 9 : 1. Đo pH.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Hàm lượng Al^{+++} trong vắc xin không được vượt quá 1,25 mg Al^{+++} /1 liều tiêm cho người.

15.28 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG PHENOL TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Phương pháp 1

Nguyên lý

Phương pháp dựa vào phản ứng tạo màu của thuốc thử Folin với phenol.

Phương pháp tiến hành

Vắc xin mẫu thử được ly tâm với vận tốc 3000 vòng/phút trong 15 phút. Bỏ cặn, lấy 1 ml phần nước ở phía trên cho vào bình định mức 100 ml và cho *nước cất* vừa đủ 100 ml, lắc đều.

Lấy 0,5 ml *dung dịch trên*, thêm 9 ml *nước cất*, 0,5 ml *thuốc thử Folin* (TT) pha loãng 2 lần, 2 ml *dung dịch natri carbonat* 20 % (TT). Lắc đều. Đun cách thủy cho sôi trong 1 phút. Làm nguội ở nhiệt độ phòng.

Song song tiến hành xây dựng đường chuẩn.

Cách dựng đường chuẩn

Hút *dung dịch phenol chuẩn* 1 : 1000 (TT) vào các ống nghiệm với lượng như sau: 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml;

0,4 ml; 0,5 ml; 0,6 ml; 0,7 ml; 0,8 ml; 0,9 ml; 1,0 ml. Thêm vào các ống nghiệm trên mỗi ống một lượng *nước cất* vừa đủ 9,5 ml; 0,5 ml *thuốc thử Folin* pha loãng 2 lần; 2 ml *dung dịch natri carbonat* 20 % (TT). Lắc đều. Đun cách thủy cho sôi trong 1 phút. Làm nguội ở nhiệt độ phòng.

Song song tiến hành làm mẫu trắng (dùng *nước cất* thay cho mẫu vắc xin thử nghiệm).

Đem so màu trên máy quang phổ với bước sóng 310 nm (cả với mẫu thử và mẫu chuẩn).

Tính kết quả theo công thức sau:

$$X = \frac{a \times 2 \times 100 \times 100}{1000000} (\%)$$

Trong đó:

X là hàm lượng phenol có trong mẫu thử (%);

$a \times 2$ là hàm lượng phenol có trong 1 ml mẫu đã pha loãng tìm được trên đường chuẩn;

100 là độ pha loãng của mẫu thử.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Mỗi loại vắc xin, sinh phẩm có tiêu chuẩn khác nhau về hàm lượng phenol (dựa vào tiêu chuẩn của WHO hoặc tiêu chuẩn Việt Nam cho vắc xin hay sinh phẩm đó). Hàm lượng phenol trong vắc xin thành phẩm nói chung không được vượt quá 0,12 g/lít. Trừ những quy định cụ thể khác. Theo nguyên tắc chung, hàm lượng phenol trong vắc xin thành phẩm không được thấp hơn so với hàm lượng cho thấy có khả năng kháng khuẩn và không được cao hơn 115 % so với lượng đăng ký trên nhãn.

Pha *dung dịch phenol chuẩn*

Cân chính xác 1 g *phenol* (TT) hòa tan trong vừa đủ 100 ml *nước cất*. Trước khi dùng pha loãng 1000 lần bằng *nước cất*.

Pha *dung dịch natri carbonat* 20 %

Cân 20 g *natri carbonat* (TT) hòa tan trong vừa đủ 100 ml *nước cất*. Lọc vào chai đựng.

Phương pháp 2

Mẫu thử được trộn đều để làm thử nghiệm. Pha loãng mẫu thử bằng *nước cất* (nếu cần thiết) để có nồng độ phenol khoảng 15 µg/ml.

Chuẩn bị mẫu phenol chuẩn theo các nồng độ 5 µg; 10 µg; 15 µg; 20 µg và 30 µg/ml.

Lấy 5 ml các *dung dịch mẫu thử* và *mẫu chuẩn* vào ống nghiệm, thêm 5 ml *dung dịch đệm borat pH 9,0*; 5 ml *dung dịch aminopyrazolon* và 5 ml *dung dịch kali fericyanid*. Lắc đều, để yên 10 phút, đo quang phổ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 546 nm. Dựa vào đường chuẩn để tính ra hàm lượng phenol có trong mẫu thử.

Cách pha *dung dịch đệm borat pH 9,0*

Dung dịch A: Hòa tan 6,18 g *acid boric* (TT) trong vừa đủ 1000 ml *dung dịch kali clorid* 0,1 M.

Dung dịch B: *Dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (TT).

Trộn 1000 ml dung dịch A với 420 ml dung dịch B thu được dung dịch đệm pH 9,0.

Cách pha dung dịch aminopyrazolon:

Dung dịch 4-aminophenazon 1 % trong dung dịch đệm borat pH 9,0.

15.29 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG THIMEROSAL TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Có nhiều phương pháp để xác định hàm lượng thimerosal trong vắc xin và sinh phẩm. Tùy theo khả năng hiện có về thiết bị và hóa chất tại cơ sở để chọn 1 trong 2 phương pháp thử nghiệm sau đây: Phương pháp hóa lý và phương pháp vi sinh vật.

Phương pháp hóa lý

Nguyên lý

Dựa vào phản ứng giải phóng ion thủy ngân tự do từ thimerosal, kết hợp với dithizon thành dithizon-thủy ngân, xác định bằng cách so màu.

Cách tiến hành

Làm song song 2 mẫu (mẫu vắc xin thử và mẫu chứng nước cất), lấy 0,2 ml mỗi mẫu cho vào từng bình nút mài riêng biệt có dung tích 100 ml.

Cho vào mỗi bình 1,2 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)*, pha loãng 2 lần tính theo thể tích và đun nhẹ bình số 1 (chứa mẫu vắc xin thử) trong cách thủy cho đến khi tan hết. Thêm vào mỗi bình 5 ml *dung dịch kali permanganat 5 % (TT)*, lắc đều và để yên trong 1 giờ.

Loại bỏ *kali permanganat* thừa bằng cách thêm 1,5 ml *dung dịch hydroxylamin clorid 10 % (TT)*, thêm 35 ml *nước cất 2 lần*, 5 ml *dung dịch acid acetic 6 M (TT)* và trộn đều. Dùng buret thêm chính xác vào mỗi bình 10 ml *dung dịch dithizon 0,001 %* và lắc 30 giây.

Chuyển toàn bộ dung dịch thử của từng bình vào mỗi bình lắng gạn riêng biệt, tách lớp *cloroform* qua một lớp bông đã hấp và sấy khô vào các ống nghiệm. Đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 580 nm $\pm$ 10 nm (kính lọc màu da cam) hoặc bước sóng 597 nm $\pm$ 10 nm (kính lọc màu đỏ).

Hàm lượng thimerosal (X, %) có trong vắc xin thử được tính theo công thức:

$$X = \frac{a \times 100 \times 100}{0,2 \times 49,55 \times 1000000} = a \times 0,00101$$

Trong đó:

a là lượng thủy ngân (μ g) xác định được theo đường chuẩn;

0,2 là số ml dung dịch vắc xin thử;

49,55 là hàm lượng thủy ngân có trong 100 phần của thimerosal;

100 là 100 phần thimerosal;

100 là đổi ra phần trăm;

1 000 000 là hệ số chuyển đổi từ μ g sang g.

Cách dựng đường chuẩn

Cân chính xác 0,5 g thủy ngân, hòa vào 15 ml *acid nitric đậm đặc (TT)* và thêm *nước cất* vừa đủ 500 ml, được dung dịch thủy ngân có hàm lượng 1 mg/ml (DD*). Xác định hàm lượng thủy ngân như sau: Lấy 10 ml DD*, cho thêm 10 giọt *dung dịch phèn sắt amoni 10 %* và chuẩn độ từ từ với *dung dịch amoni sulfocyanid 0,01 N (CĐ)* cho đến khi xuất hiện màu da cam.

1 ml *dung dịch amoni sulfocyanid 0,01 N (CĐ)* tương đương với 0,001003 g thủy ngân.

Lấy 5 bình nút mài có dung tích 100 ml để tiến hành song song 5 thí nghiệm với 5 mẫu: 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml, 1,0 ml, 1,2 ml dung dịch thủy ngân chuẩn trên. Thêm vào mỗi bình 1,2 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* đã pha loãng 2 lần và 3 ml *nước cất 2 lần*. Nếu không có *nước cất 2 lần* thì sử dụng nước xử lý dithizon như sau: Cho vào mỗi bình gạn 10 ml *dung dịch dithizon (TT)* (0,01 g dithizon/1 lít nước), sau đó tách phần cloroform ra. Nếu màu của dithizon thay đổi thì làm đi làm lại vài lần cho đến khi màu của dithizon không thay đổi. Thêm 5 ml *dung dịch natri clorid 0,9 % (TT)* và 5 ml *dung dịch acid acetic 6 M (TT)* và tiến hành tiếp tục như đối với mẫu kiểm tra ghi ở phần trên. Các kết quả thu được cho phép lập một đường chuẩn về thủy ngân.

Cách pha dung dịch dithizon (TT) 0,001 %

Cân chính xác 10 mg dithizon (TT) hòa tan vào cloroform (TT) và thêm vừa đủ 100 ml với cùng dung môi.

Bảo quản dung dịch ở chỗ tối 4 °C đến 8 °C trong vòng 1 tháng. Trước khi dùng pha loãng 10 lần.

Phương pháp vi sinh vật

Nguyên lý

Phương pháp thực hiện dựa trên sự hình thành vòng ức chế kháng khuẩn được tạo bởi dung dịch thimerosal chuẩn và thimerosal có trong mẫu thử; so sánh đường kính vòng ức chế kháng khuẩn.

Cách tiến hành

Pha thạch thường, đun nóng chảy hoàn toàn và đổ thạch dày 4 mm lên một phiến kính hình chữ nhật phẳng. Để thạch nguội hoàn toàn, đục lỗ thạch (đường kính 8 mm) sao cho khoảng cách giữa các lỗ thạch ít nhất là 30 mm. Cấy chủng *Staphylococcus aureus* trên thạch nghiêng, ủ ở 37 °C trong 18 giờ đến 24 giờ. Gặt và pha vi khuẩn bằng *nước muối sinh lý* vô khuẩn thành huyền dịch 10^9 vi khuẩn/ml. Lắng đều huyền dịch vi khuẩn (0,5 ml/đĩa thạch) trên đĩa thạch đã đục lỗ. Nhỏ vào mỗi lỗ 100 μ l dung dịch thimerosal chuẩn chứa 1 g thimerosal/1 lít ở các độ pha loãng 1/2,5, 1/5, 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160. Ủ ở 37 °C trong 24 giờ.

Đọc kết quả

Đo đường kính các vùng ức chế vi khuẩn mọc của các đậm độ thimerosal chuẩn, xây dựng đường chuẩn. Dựa vào đường chuẩn và đường kính vùng ức chế của

vắc xin mẫu thử để tính ra hàm lượng thimerosal có trong vắc xin mẫu thử.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Hàm lượng thimerosal trong mỗi vắc xin và sinh phẩm có thể khác nhau tùy theo yêu cầu cụ thể, nhưng không được thấp hơn hàm lượng cho thấy có khả năng kháng khuẩn và không cao hơn 115 % hàm lượng thimerosal ghi trên nhãn.

Yêu cầu chung cho hàm lượng thimerosal trong các vắc xin và sinh phẩm có sử dụng thimerosal làm chất bảo quản đều không được vượt quá 0,02 %.

15.30 XÁC ĐỊNH HIỆU LỰC VẮC XIN ĐẠI THEO PHƯƠNG PHÁP HABEL

Nguyên lý

Gây miễn dịch cho chuột nhắt trắng với một độ pha loãng vắc xin. Sau 14 ngày thử thách bằng chủng thử thách CVS với nhiều độ pha loãng khác nhau.

Phương pháp tiến hành

Pha vắc xin và gây miễn dịch cho chuột nhắt trắng 4 đến 6 tuần tuổi, trọng lượng 13 g đến 16 g.

Từ 1 ống nghiệm có ít nhất 3 ml hỗn dịch vắc xin đại, lấy ra 1 ml trộn với 39 ml nước muối sinh lý (đã được làm lạnh), lắc đều và để ngay trong điều kiện lạnh.

Tiêm miễn dịch cho 60 chuột, mỗi chuột 0,25 ml vào phúc mạc. Tiêm 6 mũi, mỗi mũi cách nhau 1 ngày. Song song nuôi một lô chuột đối chứng gồm 40 con. Đến ngày thứ 14 kể từ khi tiêm miễn dịch mũi đầu tiên thì tiến hành tiêm thử thách.

Pha chủng CVS và thử thách

Hỗn dịch 20 % chủng CVS bảo quản ở nhiệt độ -70 °C được làm tan nhanh dưới vòi nước chảy.

Pha loãng từ 10^{-1} đến 10^{-7} bằng dung dịch huyết thanh ngựa 2 % (98 ml nước cất 2 lần vô khuẩn + 2 ml huyết thanh ngựa thường đã bất hoạt 56 °C trong 30 phút).

Tiêm vào não chuột mỗi con 0,03 ml.

Đối với lô chuột miễn dịch, tiêm các độ pha: 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} .

Đối với lô chuột đối chứng, tiêm các độ pha: 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} .

Theo dõi và tính kết quả

Sau khi tiêm thử thách, hàng ngày theo dõi 2 lô chuột và ghi kết quả đầy đủ.

Những chuột chết trước ngày thứ 5 sau ngày thử thách không được tính trong kết quả.

Những chuột chết, liệt do đại sau ngày thứ 5 được coi như chết vì bệnh đại.

Đọc kết quả cuối cùng vào ngày thứ 14 sau khi tiêm thử thách. Kết quả được tính theo phương pháp Reed - Muench.

LD_{50} bảo vệ = LD_{50} của chuột đối chứng - LD_{50} của chuột miễn dịch.

Trong đó LD_{50} của chuột đối chứng và chuột miễn dịch được tính theo công thức :

$$\lg LD_{50} = \lg A + \frac{50 - a}{b - a} \times k$$

Trong đó:

A là độ pha loãng của CVS gây chết chuột ngay sát dưới 50 %;

a là % chuột chết ngay sát dưới 50 %;

b là % chuột chết ngay sát trên 50 %;

k là log bậc pha loãng.

Ví dụ tính kết quả theo phương pháp Reed - Muench:

1. Lô đối chứng

Độ pha CVS	Chuột miễn dịch		Tổng số tích lũy		Số % chuột chết
	Sống	Chết	Sống	Chết	
10^{-5}	0	10	0	17	17/17 = 100
10^{-6}	4	6	4	7	7/11 = 64
10^{-7}	9	1	13	1	1/14 = 7

$$LD_{50} = \frac{50\% - 7\%}{64\% - 7\%} = \frac{43}{57} = 0,75$$

LD_{50} đối chứng = $7 - 0,75 = 6,25$

Từ đó: Log (50 % của độ pha loãng cuối cùng) = - 6,25 và 50 % của độ pha loãng cuối cùng (hiệu giá LD_{50}) = $10^{-6,25}$.

2. Lô chuột miễn dịch

Độ pha CVS	Chuột miễn dịch		Tổng số tích lũy		Số % chuột chết
	Sống	Chết	Sống	Chết	
10^{-1}	4	6	4	20	20/24 = 83,83
10^{-2}	5	5	9	14	14/23 = 61
10^{-3}	3	7	12	9	9/21 = 43
10^{-4}	8	2	20	2	2/22 = 9
10^{-5}	10	0	30	0	0

$$LD_{50} = \frac{50\% - 43\%}{61\% - 43\%} = \frac{7}{18} = 0,39$$

Từ đó: Log (50 % của độ pha loãng cuối cùng) = -2,61. và 50 % của độ pha loãng cuối cùng = $10^{-2,61}$.

Vậy:

LD_{50} bảo vệ = $6,25 - 2,61 = 3,64$.

Vắc xin bảo vệ được: $10^{-3,64} LD_{50}$.

Tính ra bằng: 4 364 LD_{50} ;

Lấy tròn: 4 400 LD_{50} bảo vệ.

Kết luận: Theo tiêu chuẩn LD_{50} bảo vệ tối thiểu phải bằng 1000, vậy vắc xin đạt yêu cầu về hiệu lực.

15.31 XÁC ĐỊNH HIỆU LỰC VẮC XIN ĐẠI THEO PHƯƠNG PHÁP NIH

Nguyên lý

Thử nghiệm NIH (National Institute of Health - USA) được Tổ chức Y tế Thế giới chính thức công nhận để kiểm tra công hiệu vắc xin đại bất hoạt. Công hiệu vắc xin đại được xác định bằng cách so sánh liều hữu hiệu bảo vệ chuột chống lại liều gây chết của virus đại với một vắc xin đại mẫu chuẩn đã biết trước công hiệu (IU/ml). Thử nghiệm được tiến hành song song 2 vắc xin (mẫu thử và mẫu chuẩn), sau 14 ngày thử thách với cùng 1 liều chủng virus thử thách CVS.

Phương pháp tiến hành

Pha vắc xin và gây miễn dịch

Pha vắc xin mẫu chuẩn bằng nước vô khuẩn để tiêm (hoặc PBS pH 7,2 - 7,4) để có được độ pha có chứa 1 IU/ml. Phân chia vào các ống một lượng vắc xin đủ dùng cho một lần pha tiêm miễn dịch. Bảo quản ở -20 °C.

Pha vắc xin thử: Nếu là vắc xin đông khô phải hoàn nguyên bằng nước hồi chính cho tới nồng độ liều tiêm cho người.

Dung dịch vắc xin mẫu chuẩn (1 IU/ml) và dung dịch vắc xin mẫu thử đã hoàn nguyên tiếp tục được pha thành 3 độ pha bậc 5 trong dung dịch nước muối sinh lý (hoặc PBS). Các độ pha được chọn sao cho có ED₅₀ trung bình không nằm ngoài các độ pha loãng của vắc xin. Ví dụ:

Vắc xin mẫu chuẩn 1 IU pha thành các độ pha 1/5, 1/25 và 1/125.

Vắc xin thử pha thành các độ pha 1/20, 1/100 và 1/500.

Gây miễn dịch: Mỗi độ pha loãng vắc xin được gây miễn dịch cho ít nhất 16 chuột nhất trắng, 4 đến 5 tuần tuổi, 13 g đến 16 g. Mỗi chuột tiêm 0,5 ml vào phúc mạc. Tiêm 2 mũi vào ngày 0 và ngày 7.

Nhóm chuột đối chứng gồm 40 con được nuôi song song trong cùng điều kiện với nhóm chuột miễn dịch. Chuột đối chứng được dùng để chuẩn độ hiệu giá chủng virus thử thách, mỗi độ pha loãng tiêm 10 chuột.

Pha chủng CVS và thử thách.

Nhóm chuột miễn dịch được tiêm thử thách với liều trong khoảng từ 10 đến 100 LD₅₀. Thường dùng liều thử thách có chứa 25 đến 50 LD₅₀.

Ví dụ: sau 5 lần chuẩn độ hiệu giá chủng CVS là 10^{-6,81}. Như vậy để có được liều 25 LD₅₀ phải dùng độ pha đậm đặc hơn 1,4 log tức là độ pha 10^{-5,4}.

Cách pha cụ thể

Dùng huyết thanh ngựa 2 % pha hỗn dịch CVS 20 % để có được hỗn dịch 10 % (hỗn dịch A). Sau đó pha tiếp:

	Độ pha loãng	Ký hiệu
0,3 ml A + 2,7 ml huyết thanh 2 %	10 ⁻²	B
0,3 ml B + 2,7 ml huyết thanh 2 %	10 ⁻³	C
0,3 ml C + 2,7 ml huyết thanh 2 %	10 ⁻⁴	D
1 ml D + 24 ml huyết thanh 2 %	10 ^{-5,4}	E

Lấy độ pha E tiêm cho tất cả nhóm chuột miễn dịch, mỗi chuột tiêm 0,03 ml vào não.

Để chuẩn độ hiệu giá chủng CVS thử thách thực tế trong thử nghiệm, tiếp tục pha loãng bậc 10 từ hỗn dịch E (10^{-5,4}) để có các độ pha 10^{-6,4}, 10^{-7,4}, 10^{-8,4}. Mỗi độ pha chủng CVS tiêm vào não cho 10 chuột, mỗi chuột 0,03 ml.

Theo dõi và đọc kết quả

Sau khi tiêm thử thách, theo dõi các nhóm chuột trong vòng 14 ngày. Những chuột liệt hoặc chết sau ngày thứ 5 mới được tính vào kết quả. Những chuột có dấu hiệu co giật, liệt, rối loạn vận động được coi như chết vì bệnh đại. Cần ghi chép kết quả hàng ngày. Đọc kết quả cuối cùng vào ngày thứ 14 sau tiêm thử thách.

Tính kết quả

Hiệu giá chủng thử thách CVS tính theo phương pháp Reed-Muench.

Công hiệu (ED₅₀) tính theo chương trình Probit analysis của WHO.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Vắc xin đại phải đạt công hiệu ≥ 2,5 IU/liều.

15.32 XÁC ĐỊNH NITROGEN PROTEIN TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý

Phương pháp dựa vào tính chất của thuốc thử Nessler cho phản ứng màu với ion amoni (NH₄⁺) được tạo thành sau khi vô cơ hóa các protein.

Phương pháp tiến hành

a. Chuẩn bị mẫu thử

Cho 1 ml chế phẩm và 1 ml *dung dịch acid trichloroacetic 20 % (TT)* vào một ống ly tâm 10 ml, để ở nhiệt độ 4 °C đến 8 °C trong 10 giờ đến 12 giờ. Sau đó ly tâm 3500 vòng/phút trong 1 giờ, loại bỏ phần nước. Rửa tủa bằng 2 ml *dung dịch acid trichloroacetic 5 %*, tiếp tục ly tâm 3500 vòng/phút trong 1 giờ, loại bỏ phần nước. Thêm vào cặn 0,2 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* đem vô cơ hóa trên bếp cát cho đến khi dung dịch mất màu. Để tăng tốc độ phản ứng thỉnh thoảng cho vài giọt *dung dịch oxy già đậm đặc* vào ống đót sau khi làm nguội. Khi chế phẩm đã được vô cơ hóa hoàn toàn, dung dịch mất màu, thêm *nước cất 2 lần* vừa đủ 10 ml, thu được dung dịch A.

Lấy 1 ml dung dịch A vào ống nghiệm, thêm 8,5 ml *nước cất 2 lần* và 0,5 ml *thuốc thử Nessler*, được mẫu thử.

b. Song song tiến hành làm mẫu trắng gồm: 9,5 ml nước cất 2 lần và 0,5 ml thuốc thử Nessler.

c. Song song tiến hành dựng đường chuẩn

Hút dung dịch amoni sulfat chuẩn có hàm lượng 0,05 mg nitrogen/ml vào các ống nghiệm theo thứ tự sau: 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml; 0,6 ml; 0,7 ml. Thêm nước cất 2 lần vừa đủ 9,5 ml và 0,5 ml thuốc thử Nessler.

Lắc đều các ống nghiệm.

Đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 420 nm.

Vẽ đồ thị đường chuẩn.

Lượng nitrogen protein trong chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$X \text{ (mg/ml)} = \frac{a \times 6,25 \times 10}{1,0 \times 1,0 \times 1000} = a \times 0,0625$$

Trong đó:

a là lượng nitrogen tìm được trên đường chuẩn (μg);

6,25 là hệ số chuyển đổi nitơ thành protein;

10 là độ pha loãng dung dịch vô cơ hóa (ml);

1,0 là lượng mẫu thử đem so màu (ml);

1,0 là lượng mẫu thử đem tủa rồi vô cơ hóa (ml);

1000 là hệ số chuyển g thành mg.

Cách pha dung dịch amoni sulfat chuẩn có hàm lượng nitrogen 0,05 mg/ml

Cân 0,2375 g amoni sulfat (đã được sấy khô trong bình hút ẩm bằng silica gel đến trọng lượng không đổi), hòa tan vừa đủ 500 ml bằng nước cất 2 lần. Dung dịch vừa pha có hàm lượng nitrogen 0,1 mg/ml, trước khi dùng pha loãng gấp đôi bằng nước cất 2 lần.

Tiêu chuẩn cho phép

Hàm lượng nitrogen protein trong vắc xin và sinh phẩm tùy theo yêu cầu đối với từng loại mẫu thử.

15.33 XÁC ĐỊNH pH CỦA VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý

Trị số pH của một dung dịch vắc xin hay sinh phẩm được xác định bằng cách đo thế hiệu giữa điện cực chỉ thị nhạy cảm với ion hydrogen (thường là điện cực thủy tinh) và một điện cực so sánh (thí dụ điện cực calomel bão hòa). pH là một giá trị biểu thị quy ước nồng độ ion hydrogen của một dung dịch. pH của một dung dịch mẫu thử liên quan với pH của dung dịch mẫu chuẩn theo biểu thức sau:

$$\text{pH} = \text{pH}_s - \frac{(E - E_s)}{k}$$

Trong đó:

E là điện thế, tính bằng von, của pin chứa dung dịch mẫu thử;

E_s là điện thế, tính bằng von, của pin chứa dung dịch mẫu chuẩn (đã biết);

pH_s là pH của dung dịch mẫu chuẩn;

k là hệ số có giá trị thay đổi theo nhiệt độ được ghi ở bảng dưới đây:

Nhiệt độ	k
15 °C	0,0572
20 °C	0,0582
25 °C	0,0592
30 °C	0,0601
35 °C	0,0611

Phương pháp tiến hành

pH của một dung dịch vắc xin, sinh phẩm được đo bằng máy đo pH (pH meter). Máy đo pH là một điện thế kế có trở kháng đầu vào gấp ít nhất 100 lần trở kháng của các điện cực sử dụng và thường được phân độ theo đơn vị pH và có độ nhạy để phát hiện được những thay đổi cỡ 0,05 đơn vị pH hoặc ít nhất 0,003 V. Các điện cực thủy tinh là phù hợp và các kiểu máy đo pH, kể cả máy đo pH hiện số, đều phải đáp ứng yêu cầu trên. Vận hành máy đo pH tùy theo loại máy đo pH và tùy theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Tất cả các phép đo đều cần phải tiến hành trong cùng một điều kiện nhiệt độ khoảng từ 20 °C đến 25 °C, trừ trường hợp có quy định khác trong chuyên luận riêng.

Trước khi đo pH của mẫu thử, cần chuẩn định máy đo pH bằng dung dịch pH chuẩn do nhà sản xuất cung cấp (tối thiểu sử dụng 2 dung dịch pH chuẩn mà pH của dung dịch mẫu thử phải nằm trong khoảng đó). Ví dụ: Dung dịch mẫu thử cần đo pH thường nằm trong khoảng pH 4 - 7, cần sử dụng 2 dung dịch pH chuẩn là pH 4 và pH 7 để chuẩn định máy đo pH; hoặc nếu dung dịch mẫu thử cần đo pH thường nằm trong khoảng pH 7 - 10, cần sử dụng 2 dung dịch pH chuẩn là pH 7 và pH 10 để chuẩn định máy đo pH trước khi đo pH của dung dịch mẫu thử.

Tráng đầu điện cực pH bằng nước cất 2 lần, dùng giấy thấm mềm chuyên dụng để thấm khô đầu điện cực và tiến hành đo pH của dung dịch mẫu thử. Số lượng mẫu thử tối thiểu dùng để kiểm tra pH là 15 ml đến 20 ml và nên để ở nhiệt độ phòng trước khi đo. Lắc đều và rót mẫu thử vào cốc đựng mẫu, nhúng ngập đầu điện cực vào cốc mẫu thử và để cho chỉ số pH hiện trên màn hình ổn định thì xác định pH của mẫu thử. Sau khi đo pH của mẫu thử xong, cần tráng đầu điện cực bằng nước cất 2 lần, dùng giấy thấm mềm chuyên dụng để thấm khô đầu điện cực và nhúng ngập đầu điện cực của máy đo pH vào dung dịch bảo quản điện cực, ngắt điện của máy đo pH.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Tiêu chuẩn pH chấp thuận tùy theo yêu cầu đối với từng loại mẫu thử.

15.34 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG PROTEIN TOÀN PHẦN TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Protein có trong vắc xin và sinh phẩm được xác định theo nhiều phương pháp khác nhau, tùy theo từng loại vắc xin và sinh phẩm.

1. Phương pháp Lowry

Nguyên lý

Protein có trong mẫu vắc xin thử bị tủa với acid trichloroacetic nồng. Xác định lượng tủa để tính ra lượng protein có trong vắc xin, sinh phẩm.

Phương pháp tiến hành

Pha loãng mẫu thử (nếu cần thiết) để chỉnh hàm lượng protein của mẫu thử trong khoảng 20 µg/ml đến 120 µg/ml.

Thêm 1 ml *dung dịch acid trichloroacetic 10 %* vào một ống nghiệm có chứa 1 ml mẫu thử. Đun nóng ở 80 °C trong nồi cách thủy trong 15 phút. Làm nguội ở nhiệt độ phòng.

Ly tâm ở tốc độ 3500 vòng/phút trong 30 phút, loại bỏ phần dung dịch nước.

Thêm vào phần lắng cặn 2 ml *dung dịch acid trichloroacetic 5 %*. Lắc kỹ trên máy lắc và ly tâm lại một lần nữa ở tốc độ 3500 vòng/phút trong 30 phút, loại bỏ phần dung dịch nước.

Thêm 2,5 ml dung dịch Alkaline vào mỗi ống nghiệm nêu trên và ủ ở nhiệt độ phòng (thời gian ủ tùy từng loại mẫu thử) để hòa tan phần lắng cặn.

Thêm 2,5 ml *nước cất* và 0,5 ml *thuốc thử Folin* (pha loãng 1/2), ủ ở 37 °C trong 30 phút. Ly tâm với tốc độ 3500 vòng/phút đến 6000 vòng/phút trong 30 phút (với các chế phẩm chứa chất hấp phụ nhôm). Đo mật độ quang học ở bước sóng 750 nm trên quang phổ kế.

Song song tiến hành thử nghiệm với mẫu trắng: thay vào 1 ml mẫu thử là 1 ml *nước cất*.

Dùng đường chuẩn: Dùng đường chuẩn với dung dịch protein chuẩn (dung dịch albumin chuẩn ở các nồng độ 25 µg/ml; 50 µg/ml; 100 µg/ml; 150 µg/ml). Dựa vào hàm lượng protein tìm được trên đường chuẩn tính ra hàm lượng protein có trong mẫu thử.

Cách pha dung dịch Alkaline (pha ngay trước khi dùng):

Dung dịch đồng *sulfat pentahydrat 2 %*: Hòa tan 2 g đồng *sulfat pentahydrat* vào vừa đủ 100 ml *nước cất*.

Dung dịch *natri tartrat 4 %*: Hòa tan 4 g *natri tartrat* trong vừa đủ 100 ml *nước cất*.

Trộn lẫn 2 dung dịch trên được dung dịch A.

Hòa tan 0,8 g *natri hydroxyd* và 4 g *natri carbonat* trong vừa đủ 100 ml *nước cất* được dung dịch B.

Trộn 50 ml dung dịch B và 1 ml dung dịch A được dung dịch Alkaline.

2. Đo độ hấp thụ thực của protein ở bước sóng 280 nm

Nguyên lý

Protein trong dung dịch hấp thụ tia tử ngoại ở bước sóng 280 nm, do sự có mặt các amino acid dãy thơm,

chủ yếu là tyrosin và tryptophan trong cấu trúc protein.

Phương pháp tiến hành

Chuẩn bị mẫu thử: Pha loãng mẫu thử đến hàm lượng protein trong khoảng 0,2 mg/ml đến 2 mg/ml, bằng dung dịch đệm thích hợp.

Chuẩn bị mẫu chuẩn: Pha loãng mẫu chuẩn bằng cùng dung dịch đệm với mẫu thử và có hàm lượng protein tương ứng với mẫu thử.

Giữ dung dịch mẫu thử và mẫu chuẩn ở nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ các dung dịch này bằng công thạch anh ở bước sóng 280 nm, dùng nước cất làm mẫu trắng.

Hàm lượng protein trong mẫu thử (C_U) được tính bởi công thức:

$$C_U = C_S (A_U/A_S)$$

Trong đó:

C_S là hàm lượng protein trong dung dịch chuẩn;

A_U là độ hấp thụ của mẫu thử;

A_S là độ hấp thụ của dung dịch chuẩn.

3. Phương pháp Bradford

Nguyên lý

Dựa trên sự kết hợp giữa thuốc nhuộm Coomassie với protein trong môi trường acid.

Phương pháp tiến hành

Pha loãng mẫu thử bằng nước cất đến hàm lượng thích hợp trong khoảng đường chuẩn.

Chuẩn bị dung dịch chuẩn BSA (bovin serum albumin) có hàm lượng trong khoảng 0,1 mg/ml đến 1 mg/ml.

Dùng nước cất làm mẫu trắng.

Thêm 2,5 ml thuốc nhuộm Coomassie 20 % vào 0,05 ml mẫu trắng, mẫu chuẩn và mẫu thử, lắc đều. Để yên 10 phút ở nhiệt độ phòng. Đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 595 nm (không dùng công thạch anh do sẽ bị thuốc nhuộm gắn vào).

Hàm lượng protein trong mẫu thử được tính toán dựa vào đường chuẩn.

4. Phương pháp đồng/bicinchoninic acid

Nguyên lý

Dựa vào sự khử của ion Cu^{2+} thành Cu^{1+} do protein, dùng acid bicinchoninic (BCA) để xác định Cu^{1+} .

Phương pháp tiến hành

Pha loãng mẫu thử bằng nước cất đến hàm lượng thích hợp trong khoảng đường chuẩn.

Pha dung dịch chuẩn bằng nước cất (không ít hơn 5 nồng độ) có hàm lượng trong khoảng 10 µg/ml đến 1200 µg/ml.

Dùng nước cất làm mẫu trắng.

Thêm 2 ml thuốc thử đồng-BCA vào 0,1 ml mẫu trắng, mẫu chuẩn và mẫu thử, lắc đều. Ủ trong nồi cách thủy 37 °C trong 30 phút. Làm nguội ở nhiệt độ phòng trong 60 phút, đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 562 nm, dùng công thạch anh.

Dựa vào đường chuẩn tính ra hàm lượng protein có trong mẫu thử.

Pha thuốc thử BCA: Hòa tan 10 g *dinatri bicin-choninat*, 20 g *natri carbonat monohydrat*, 1,6 g *natri tatarat*, 4 g *natri hydroxyd* và 9,5 g *natri hydrogen carbonat* vào nước cất. Điều chỉnh pH 11,25 nếu cần bằng dung dịch *natri hydroxyd* hoặc dung dịch *natri hydrogen carbonat*. Thêm nước cất vừa đủ 1000 ml, lắc đều.

Pha thuốc thử đồng - BCA: Trộn 1 ml dung dịch đồng sulfat 40 g/l với 50 ml thuốc thử BCA.

5. Phương pháp biuret

Nguyên lý

Dựa vào sự tương tác của ion Cu^{2+} với protein trong dung dịch alkaline, sản phẩm thu được có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 545 nm.

Phương pháp tiến hành

Pha loãng mẫu thử bằng dung dịch nước muối sinh lý đến hàm lượng thích hợp trong khoảng đường chuẩn.

Pha dung dịch chuẩn bằng dung dịch nước muối sinh lý (không ít hơn 3 nồng độ) có hàm lượng trong khoảng từ 0,5 mg/ml đến 10 mg/ml.

Dùng dung dịch nước muối sinh lý làm mẫu trắng.

Lấy một thể tích dung dịch mẫu thử, thêm đồng lượng dung dịch *natri hydroxyd* 60 g/l, lắc đều. Ngay lập tức cho thuốc thử biuret với lượng bằng 0,4 lần thể tích dung dịch mẫu thử và lắc nhanh. Để yên ở nhiệt độ phòng 15 phút. Trong vòng 90 phút sau khi cho thuốc thử biuret, đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) của mẫu thử ở bước sóng 545 nm.

Song song tiến hành với mẫu trắng và mẫu chuẩn.

Dựa vào đường chuẩn tính ra hàm lượng protein có trong mẫu thử.

Pha thuốc thử biuret: Hòa tan 3,46 g đồng sulfat (TT) trong 10 ml nước cất nóng, để nguội (dung dịch A). Hòa tan 34,6 g *natri citrat* (TT) và 20 g *natri carbonat khan* (TT) vào 80 ml nước cất nóng, để nguội (dung dịch B). Trộn dung dịch A và B, thêm nước cất vừa đủ 200 ml. Dùng trong 6 tháng, không dùng nếu thấy vẩn đục hoặc có tủa.

6. Phương pháp quang phổ huỳnh quang

Nguyên lý

Dựa vào dẫn xuất của protein với o-phthaldehyd do chất này phản ứng với các amin chính của protein (N-terminal amino acid và nhóm ε-amino của lysin tồn dư).

Phương pháp tiến hành

Pha loãng mẫu thử bằng dung dịch nước muối sinh lý đến hàm lượng thích hợp trong khoảng đường chuẩn. Điều chỉnh pH từ 8 đến 10,5 trước khi thêm thuốc thử *phthaldehyd*.

Pha dung dịch chuẩn bằng dung dịch nước muối sinh lý (không ít hơn 5 nồng độ) có hàm lượng trong khoảng từ 10 µg/ml đến 200 µg/ml. Điều chỉnh pH từ 8 đến 10,5 trước khi thêm thuốc thử *phthaldehyd*.

Dùng dung dịch nước muối sinh lý làm mẫu trắng.

Trộn 10 µl các dung dịch mẫu thử, mẫu chuẩn, mẫu trắng với 0,1 ml thuốc thử *phthaldehyd*, để yên ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. Thêm 3 ml dung dịch *natri hydroxyd* 0,5 M và lắc đều. Đo cường độ huỳnh quang các dung dịch mẫu chuẩn và mẫu thử ở bước sóng kích thích 340 nm và bước sóng phát xạ giữa 440 nm và 445 nm.

Dựa vào đường chuẩn tính ra hàm lượng protein có trong mẫu thử.

Pha dung dịch đệm borat: Hòa tan 61,83 g *acid boric* trong nước cất và điều chỉnh pH 10,4 bằng dung dịch *kali hydroxyd*, thêm nước cất vừa đủ 1000 ml, lắc đều.

Pha dung dịch gốc phthaldehyd: Hòa tan 1,20 g o-phthaldehyd trong 1,5 ml *methanol* (TT), thêm 100 ml dung dịch đệm borat, lắc đều. Thêm 0,6 ml dung dịch *macrogol* 23 lauryl ether và lắc đều. Bảo quản ở nhiệt độ phòng sử dụng trong 3 tuần.

Pha thuốc thử phthaldehyd: Thêm 15 µl 2-mercaptoethanol vào 5 ml dung dịch gốc *phthaldehyd*. Chuẩn bị dung dịch này trước khi dùng 30 phút. Sử dụng trong vòng 24 giờ.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Mỗi loại vắc xin, sinh phẩm có tiêu chuẩn khác nhau về hàm lượng protein toàn phần (dựa vào tiêu chuẩn của WHO hoặc tiêu chuẩn Việt Nam cho vắc xin hay sinh phẩm đó).

15.35 XÁC ĐỊNH ĐỘ ẨM TỒN DƯ TRONG VẮC XIN ĐÔNG KHÔ

Nguyên lý

Sử dụng phương pháp Karl Fischer để xác định độ ẩm tồn dư trong vắc xin đông khô theo nguyên lý chung là dựa trên phản ứng toàn lượng của nước với lưu huỳnh dioxyd và iod trong sự có mặt của alcohol và một chất base hữu cơ thích hợp.

Hiện nay có nhiều thiết bị để đo độ ẩm tồn dư trong các vắc xin, sinh phẩm đông khô, tuy nhiên nguyên tắc của các thiết bị này đều phải cấu tạo sao cho thao tác thuận tiện và tránh ẩm.

Phương pháp tiến hành

Tùy theo thiết bị của các hãng khác nhau nên thao tác theo hướng dẫn vận hành của hãng đó.

Phương pháp phổ biến hiện nay để đo độ ẩm tồn dư của các vắc xin và sinh phẩm đông khô là phương pháp Karl Fischer. Vận hành máy đo độ ẩm tồn dư theo hướng dẫn sử dụng. Rót dung dịch chuẩn anod và cathod vào khoang tương ứng đến đúng mức quy định. Cần lưu ý qua một thời gian nhất định, *methanol* trong dung dịch cathod có thể thấm qua màng trao đổi ion bằng cách thẩm thấu. Để giảm bớt tình trạng này không nên rót hóa chất đầy quá mức quy định.

Bật máy và cài đặt phương pháp lựa chọn. Nếu máy đo độ ẩm tồn dư không hoạt động trong vòng 3 tuần thì vẫn nên bật máy vài giờ trong khoảng thời gian này dù không tiến hành kiểm tra mẫu gì để nạp pin và đảm bảo tất cả các thông tin của chương trình vẫn được duy trì. Cần đảm bảo trước khi nạp mẫu thử tỷ lệ % độ ẩm trên màn hình phải ổn định và ở mức độ thấp để đủ đạt được kết quả theo yêu cầu.

Cân chính xác trọng lượng tổng của cả mẫu thử và vật chứa mẫu.

Nhập trọng lượng tổng của cả mẫu thử và vật chứa mẫu vào máy, sau đó nhập trọng lượng của vật chứa mẫu. Đưa mẫu vào khoang bên ngoài qua đường bơm mẫu (nếu vận hành trong điều kiện độ ẩm cao và sáng thì nên đóng kín nắp khoang chứa mẫu thử khi vận hành).

Khi thực hiện xong thử nghiệm, máy in sẽ tự động in ra kết quả độ ẩm tồn dư của mẫu thử.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Độ ẩm tồn dư trong vắc xin và sinh phẩm đông khô không được vượt quá 3 % ($\leq 3\%$).

15.36 PHÁT HIỆN MYCOPLASMA BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY

Nguyên vật liệu

Mẫu thử nghiệm: Nước nổi nuôi tế bào, hỗn dịch virus, vắc xin bán thành phẩm và thành phẩm.

Môi trường nuôi cấy: Môi trường lỏng 1: LM1 (pH 7,6 đến 7,8; môi trường có màu đỏ) và môi trường lỏng 2: LM2 (pH 7,2; môi trường có màu vàng cam), dưới dạng 100 ml/chai hoặc 10 ml/ống.

Môi trường rửa lọc: Môi trường PPLO lỏng.

Môi trường đặc: Môi trường thạch PPLO.

Màng lọc 0,1 μm , xy lanh 10 ml và dụng cụ cần thiết đủ cho tiến hành thử nghiệm.

Các bước tiến hành

Chuẩn bị môi trường

Pha môi trường LM1 (pH 7,6 đến 7,8): 500 ml.

Nước cất pha tiêm: 375 ml.

Môi trường PPLO lỏng: 8 g.

Đồ phenol 0,4 %: 2,5 ml.

Hấp ở 121 °C trong 15 phút, sau đó thêm 75 ml huyết thanh ngựa, 50 ml Yeast Extract 25 %, 6 ml glucose 25 % và 1,25 ml penicilin G. Trộn đều, ra chai 100 ml và ống thử 10 ml.

Pha môi trường LM2 (pH 7,0 đến 7,2): 500 ml.

Nước để pha thuốc tiêm: 375 ml.

Môi trường PPLO lỏng: 8 g.

L-Arginin: 1,5 g.

Đồ phenol 0,4 %: 2,5 ml.

Hấp ở 121 °C trong 15 phút sau đó thêm 75 ml huyết thanh ngựa, 50 ml Yeast Extract 25 %, và 1,25 ml

penicilin G, 1 ml acid hydrochloric. Trộn đều, ra chai 100 ml và ống thử 10 ml.

Pha môi trường thạch PPLO: 500 ml.

Thạch PPLO: 13,5 g.

Nước để pha thuốc tiêm: 375 ml.

Hấp tại 121 °C trong 15 phút sau đó thêm 75 ml huyết thanh ngựa, 50 ml Yeast Extract 25 % và 1,25 ml penicilin G. Trộn đều, sau đó đổ thạch ra phiến 6 giếng: 8 ml/giếng, bảo quản 37 °C trước khi thử độ nhạy 1 ngày.

Pha môi trường rửa màng lọc

Môi trường PPLO lỏng: 2,1 g.

Nước để pha thuốc tiêm: 100 ml.

Hấp ở 121 °C trong 15 phút.

Các bước tiến hành

Lọc mẫu: Sử dụng xylanh 10 ml hút 6 ml mẫu thử vào giá lọc 0,1 μm và bơm mẫu qua lọc cho đến hết.

Rửa lọc: Sử dụng 30 ml môi trường rửa lọc và xylanh 10 ml, bỏ kim, sau đó bơm từ từ cho đến khi môi trường rửa qua hết lọc.

Tháo lọc, lấy giấy lọc cho vào đĩa petri vô trùng, cắt đôi giấy lọc, cho mỗi nửa giấy lọc vào mỗi chai môi trường LM1 và LM2 đã chuẩn bị sẵn.

Chai môi trường sau gây nhiễm được nuôi ở 37 °C trong 28 ngày.

Cây truyền trên môi trường lỏng: Sau gây nhiễm 14 ngày, lấy mẫu từ chai môi trường nuôi cấy chuyển sang ống môi trường nuôi cấy cùng loại: 0,2 ml/ống thử, 3 ống thử mỗi loại môi trường và đặt tại 37 °C trong 14 ngày.

Cây truyền trên môi trường đặc: Thạch được chuẩn bị trên phiến 6 giếng, gây nhiễm 10 μl từ ống thử nghi ngờ lên chính giữa mặt thạch, dán kín phiến và nuôi tại 37 °C trong 10 ngày.

Đọc kết quả

Đọc kết quả lần gây nhiễm đầu tiên: Ngày thứ 28.

Đọc kết quả lần cấy truyền: Ngày thứ 14 trên môi trường lỏng và ngày thứ 10 trên môi trường thạch;

Kết quả dương tính khi màu môi trường LM1 chuyển từ màu đỏ sang màu vàng cam; màu môi trường LM2 từ màu vàng cam sang màu đỏ ánh tím và có khuẩn lạc giống hình trứng ốp lếp trên môi trường thạch.

Kết quả âm tính khi màu môi trường của 2 loại môi trường lỏng không thay đổi giống như ống thử đối chứng và không có khuẩn lạc mọc trên môi trường thạch.

15.37 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG VI POLYSACCHARID CỦA VẮC XIN THƯƠNG HẠN VI POLYSACCHARID

Nguyên lý

Sử dụng phản ứng điện di miễn dịch rocket để xác định hàm lượng Vi polysaccharid trong vắc xin thương hàn Vi.

Phương pháp tiến hành

Pha dung dịch đậm và thạch agarose

Pha dung dịch đậm barbitol ½.

Rót dung dịch đậm barbitol ½ vào bể điện di.

Pha thạch agarose (0,5 g thạch *agarose* hòa vào 40 ml dung dịch đậm barbitol ½), đun cách thủy hoặc đun trên máy khuấy từ gia nhiệt cho đến khi thạch tan chảy hoàn toàn.

Đổ thạch nguội đến khoảng 56 °C, cho 1 ml huyết thanh thử kháng Vi vào và lắc nhẹ tròn đều chai thạch sao cho huyết thanh thử kháng Vi hòa tan đều vào thạch nhưng không bị tạo bọt.

Tạo bản gel và đục lỗ thạch

Đổ thạch trên khuôn, chờ thạch nguội hoàn toàn.

Đục lỗ thạch bằng bộ đục lỗ chuyên dụng sao cho các giếng trên bản gel phải cách mép bản gel ít nhất 2 cm và cách nhau ít nhất 1 cm. Số lượng giếng trên bản gel phải được tính toán sao cho có đủ 5 giếng cho các hàm lượng kháng nguyên Vi chuẩn, 2 giếng (làm kép) cho mỗi mẫu thử.

Pha mẫu kháng nguyên Vi chuẩn

Pha loãng kháng nguyên Vi chuẩn bằng dung dịch PBS ở các độ pha loãng như sau: 100 µg; 50 µg; 25 µg; 12,5 µg; 6,25 µg Vi polysaccharid /ml.

Lần lượt nhỏ mẫu chuẩn ở các độ pha loãng như trên vào từng giếng trên bản gel (5 µl/giếng); cho vào 2 giếng tiếp theo mỗi giếng 5 µl vắc xin mẫu thử.

Chạy điện di miễn dịch Rocket

Đặt bản gel vào máy điện di theo hướng mẫu đi từ cực âm sang cực dương.

Bật nguồn, cài đặt các thông số thích hợp về hiệu điện thế, cường độ dòng điện và thời gian chạy điện di của mẫu.

Dùng giấy lọc Whatman làm cầu nối từ bể dung dịch điện di tới bản gel ở cả 2 đầu bản gel.

Bấm nút "Run" để chạy điện di.

Rửa bản gel

Sau khi chạy điện di xong, tắt nguồn, lấy bản gel ra khỏi máy điện di, cho vào hộp nhựa trong có nắp kín.

Cho nước muối sinh lý ngập bản gel và ngâm, lắc nhẹ bằng máy lắc trong 3 giờ (thay nước muối sinh lý 1 giờ/lần).

Hút hết nước muối sinh lý ra và thay bằng nước cất. Ngâm và lắc hộp nước cất có chứa bản gel liên tục. Sau khi ngâm được 1 giờ, thay nước cất 30 phút/ lần.

Ủ bản gel

Đổ toàn bộ nước cất ra khỏi hộp.

Phủ một lớp giấy lọc lên mặt bản gel để tránh cho bản gel không bị khô không đồng đều.

Ủ bản gel qua đêm trong tủ ẩm 37 °C.

Nhuộm và tẩy bản gel

Bóc bỏ lớp giấy lọc trên mặt bản gel.

Nhuộm bản gel bằng dung dịch nhuộm màu trong 15 phút. Trong quá trình nhuộm, lắc đều hộp dung dịch nhuộm màu có chứa bản gel bằng máy lắc.

Hút bỏ toàn bộ dung dịch nhuộm màu và bơm dung dịch tẩy màu vào hộp chứa bản gel; ngâm, lắc liên tục cho đến khi nhìn rõ những cột tên lửa trên bản gel. Nếu bản gel vẫn còn xanh đậm, có thể thay dung dịch tẩy màu mới nhằm rút ngắn thời gian tẩy màu của bản gel.

Đọc và tính kết quả

Bản gel được đưa ra khỏi hộp nhựa và đặt trên phiến kính trong.

Dùng thước đo chuyên dụng để đo chiều cao các cột tên lửa trên bản gel, từ các giếng kháng nguyên chuẩn và mẫu thử.

Dựa vào chiều cao các cột tên lửa, xây dựng được đường chuẩn và tính kết quả hàm lượng kháng nguyên Vi từ mẫu thử bằng chương trình Excel.

Đánh giá kết quả

Loạt vắc xin thương hàn Vi polysaccharid được coi là đạt yêu cầu về chỉ số hàm lượng Vi polysaccharid khi thử nghiệm có giá trị (valid) và đạt 35 µg đến 65 µg polysaccharid/0,5 ml vắc xin.

Nếu thử nghiệm xác định hàm lượng Vi polysaccharid không có giá trị (invalid) vì một lý do nào đó thì phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu bằng lượng mẫu của lần kiểm tra thứ nhất.

Nếu thử nghiệm xác định hàm lượng Vi polysaccharid có giá trị (valid) nhưng không đạt yêu cầu về hàm lượng như quy định thì nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu gấp đôi. Ở lần kiểm tra thứ hai nếu hàm lượng Vi polysaccharid đạt yêu cầu (nằm trong khoảng cho phép của tiêu chuẩn chấp thuận thì loạt vắc xin đó được coi là đạt yêu cầu về hàm lượng Vi polysaccharid. Nếu kết quả hàm lượng Vi polysaccharid không đạt yêu cầu thì loạt vắc xin đó phải hủy bỏ, không được phép xuất xưởng đưa vào sử dụng.

Tiêu chuẩn chấp thuận

(25 µg ± 30 %) Vi polysaccharid/0,5 ml (1 liều đơn vắc xin dùng cho người).

15.38 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG POLYSACCHARID TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý

Polysaccharid có trong mẫu thử được chuyển thành đường đơn, sau đó phản ứng với anthron tạo thành hợp chất màu. Đo hợp chất màu này ở bước sóng 620 nm, từ đó xác định hàm lượng polysaccharid trong mẫu thử.

Tiến hành

Pha loãng dung dịch *glucose* chuẩn 500 µg/ml bằng nước cất thành các nồng độ 2,5 µg/ml; 5,0 µg/ml; 7,5 µg/ml; 10,0 µg/ml; 12,5 µg/ml. Mẫu thử được

điều chỉnh bằng *nước cất* để có nồng độ protein khoảng 200 µg/ml.

Hút 1 ml mẫu thử và mỗi dung dịch glucose chuẩn vừa pha loãng trên vào ống nghiệm, thêm 4 ml *dung dịch anthron 0,2 %*; lắc đều, đun cách thủy 100 °C trong 15 phút. Làm nguội nhanh trong nước đá và để ở nhiệt độ phòng trong 60 phút.

Đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 620 nm, dựng đường chuẩn, từ đó tính ra hàm lượng polysaccharid trong mẫu thử.

Đơn vị tính: µg/100 µg protein.

Cách pha các dung dịch

Dung dịch *glucose* chuẩn 500 µg/ml: Hòa tan 50 mg glucose bằng *nước cất* trong bình định mức 100 ml, thêm *nước cất* vừa đủ. Trước khi dùng, pha loãng 10 lần bằng *nước cất*.

Dung dịch *anthron 0,2 %*: Cân 0,2 g anthron chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm *acid sulfuric 95 %* vào vừa đủ 100 ml.

Bảo quản dung dịch ở 2 °C đến 10 °C trong chai thủy tinh màu, sử dụng trong vòng 2 tuần sau khi pha.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Tùy từng loại vắc xin và sinh phẩm. Đối với bán thành phẩm viêm gan B, hàm lượng polysaccharid không lớn hơn 10 µg/100 µg protein.

15.39 XÁC ĐỊNH ĐỘ TINH KHIẾT KHÁNG NGUYÊN HBsAg

Thử nghiệm xác định độ tinh khiết kháng nguyên HBsAg được thực hiện trong giai đoạn bán thành phẩm của vắc xin viêm gan B.

Độ tinh khiết kháng nguyên HBsAg được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch đệm PBS pH 6,8.

Cách pha dung dịch đệm PBS pH 6,8: Cân 3,48 g *natri phosphat monobasic*; 9,75 g *natri phosphat dibasic*; 23,38 g *natri clorid* và 0,1 g *natri azid*, hòa tan trong vừa đủ 1 lít *nước khử ion*. Điều chỉnh pH bằng 6,8. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Điều kiện sắc ký

Cột TKgel G3000SW, Nhật Bản.

Nhiệt độ phòng.

Tốc độ dòng: 0,6 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Lọc mẫu thử qua màng lọc 0,45 µm trước khi cho mẫu vào cột.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Tỷ lệ diện tích vùng HBsAg so với tổng số các vùng khác không nhỏ hơn 95 %.

15.40 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG LIPID TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý

Dựa trên phản ứng của lipid với vanilin trong môi trường acid sulfuric và acid phosphoric tạo thành hợp chất màu. Đo hợp chất màu này ở bước sóng 540 nm, từ đó xác định hàm lượng lipid trong mẫu thử.

Tiến hành

Mẫu thử được điều chỉnh bằng *nước cất* để có nồng độ protein khoảng 200 µg/ml.

Hút dung dịch dầu ô liu chuẩn 500 µg/ml vào các ống nghiệm lần lượt 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; thêm *nước cất* vừa đủ 1 ml.

Hút 1 ml mẫu thử vào ống nghiệm, 1 ml *nước cất* vào mẫu trắng. Thêm 3 ml *acid sulfuric 95 %* vào mỗi ống nghiệm, lắc mạnh bằng máy lắc. Đun cách thủy 100 °C trong 10 phút, làm lạnh bằng nước đá trong 5 phút. Thêm 13 ml *dung dịch phosphovanilin (TT)* vào mỗi ống nghiệm, lắc kỹ. Đun cách thủy 37 °C ± 2 °C trong 30 phút, làm lạnh, để yên ở nhiệt độ phòng 30 phút.

Đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 540 nm, dựng đường chuẩn, từ đó tính ra hàm lượng lipid trong mẫu thử.

Đơn vị tính: µg/100 µg protein.

Cách pha các dung dịch

Dung dịch dầu ô liu chuẩn 5000 µg/ml: Cân 0,25 g dầu ô liu vào bình định mức 50 ml, thêm *ethanol (TT)* vừa đủ, lắc kỹ. Bảo quản dung dịch ở 4 °C đến 7 °C, dùng trong 1 tháng. Trước khi dùng, pha loãng 10 lần bằng *nước cất*.

Dung dịch vanilin 0,6 %: Hòa tan 6,0 g *vanilin* trong 6 ml đến 7 ml *ethanol (TT)*, chuyển vào bình định mức 1 lít, thêm *nước cất* đến định mức.

Dung dịch phosphovanilin: Cho 350 ml *dung dịch vanilin 0,6 %* và 50 ml *nước cất* vào cốc thủy tinh, khuấy đều. Thêm 600 ml *acid phosphoric 85 % (TT)* trong khi đang khuấy từ.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Tùy từng loại vắc xin và sinh phẩm.

Đối với bán thành phẩm viêm gan B, hàm lượng lipid không lớn hơn 100 µg/100 µg protein.

15.41 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CESI CLORID TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý

Cesi clorid tồn dư trong quá trình tinh khiết HBsAg được xác định bằng phương pháp sắc ký trao đổi ion.

Tiến hành

Mẫu chuẩn: Hút 1 ml *nước khử ion* vào 3 ống nghiệm, thêm lần lượt 0,2 ml; 0,4 ml; 0,6 ml *dung dịch cesi clorid* chuẩn 0,001 %.

Mẫu thử : Hút 1 ml mẫu đã pha loãng 5 lần bằng nước khử ion vào ống nghiệm, thêm 0,4 ml dung dịch chuẩn. Lọc các dung dịch mẫu chuẩn và mẫu thử qua màng lọc 0,22 µm.

Điều kiện vận hành máy sắc ký ion: Cột IonPac Cs-12, detector đo độ dẫn điện 5 mS đến 10 mS, tốc độ dòng 1,0 ml/phút, thể tích mẫu thử: 100 µl, nhiệt độ phòng.

Dựa vào diện tích pic để tính ra hàm lượng *cesi clorid* trong mẫu thử.

Đơn vị tính: µg/20 µg protein.

Cách pha các dung dịch

Dung dịch acid hydrocloric 0,04 M (dung dịch rửa giải): Lọc 1,5 lít nước khử ion qua màng lọc 0,45 µm, hút 3,3 ml acid hydrocloric đậm đặc (TT) pha trong vừa đủ 1 lít nước khử ion vừa lọc trên.

Dung dịch tetrabutyl amoni hydroxyd (TBAOH) (dung dịch tái sinh): Hút 66,67 ml TBAOH vào ống đong 2 lít, thêm nước khử ion vừa đủ 2 lít, khuấy đều.

Dung dịch cesi clorid chuẩn 0,01 %: Cân chính xác khoảng 10 mg (a) *cesi clorid*, chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm nước khử ion vừa đủ, lắc đều.

Pha loãng 10 lần dung dịch *cesi clorid* chuẩn 0,01 % bằng nước khử ion trước khi dùng. Hàm lượng *cesi clorid* thực có trong dung dịch (X) được tính bằng công thức:

$$X = \frac{132,9}{168,4} \times \frac{a}{100} \times \frac{1}{10} \times 1000$$

Trong đó:

132,9 là phân tử lượng của Cs;

168,4 là phân tử lượng của CsCl;

10 là hệ số pha loãng dung dịch chuẩn;

1000 chuyển từ mg sang µg.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Không lớn hơn 5 µg/20 µg protein.

PHỤ LỤC 16**16.1 CÁC PHƯƠNG PHÁP TIỆT KHUẨN**

Một sản phẩm được coi là vô khuẩn nếu nó hoàn toàn không chứa bất kỳ vi sinh vật sống nào. Phương pháp tiệt khuẩn là phương pháp làm cho một sản phẩm trở thành vô khuẩn. Do không thể đảm bảo độ vô khuẩn của sản phẩm bằng cách thử vô khuẩn, nên độ vô khuẩn của sản phẩm chỉ có thể đảm bảo bằng cách áp dụng một qui trình sản xuất đã được thẩm định thích hợp. Đối với mỗi qui trình tiệt khuẩn đã chọn phải tiến hành khảo sát để đảm bảo hiệu quả tiệt khuẩn và tính toàn vẹn của sản phẩm, bao gồm cả vật chứa và bao gói bên ngoài, trước khi áp dụng vào thực tế. Trong quá trình sản xuất phải tuân thủ đúng qui trình tiệt khuẩn đã thẩm định. Nếu có thay đổi lớn trong qui trình tiệt khuẩn, bao gồm cả sự thay đổi kích cỡ lô, phải tái thẩm định qui trình. Trong khi xây dựng qui trình sản xuất thuốc vô khuẩn phải tuân theo các nguyên tắc thực hành tốt sản xuất GMP, cụ thể là:

Sử dụng công nhân lành nghề đã trải qua quá trình huấn luyện thích hợp;

Thiết kế nhà xưởng phù hợp;

Thiết kế máy móc, thiết bị sản xuất sao cho dễ vệ sinh và tiệt khuẩn;

Áp dụng các biện pháp phòng ngừa thích hợp nhằm làm giảm số lượng vi sinh vật trong sản phẩm trước khi tiệt khuẩn;

Thẩm định qui trình sản xuất cho tất cả các công đoạn trong dây chuyền sản xuất có nguy cơ nhiễm khuẩn;

Thiết lập và thực thi chương trình giám sát chất lượng môi trường sản xuất và các qui trình kiểm tra trong quá trình sản xuất.

Các phương pháp mô tả dưới đây chủ yếu dùng để diệt hoặc loại bỏ vi khuẩn, nấm men và nấm mốc ra khỏi sản phẩm cần tiệt khuẩn. Đối với các sản phẩm sinh học có nguồn gốc từ người hay động vật, trong quá trình thẩm định phải chứng minh khả năng loại bỏ hay làm bất hoạt virus của qui trình tiệt khuẩn.

Nếu có thể, nên ưu tiên chọn phương pháp tiệt khuẩn thành phẩm. Nếu không thể tiệt khuẩn thành phẩm được, có thể loại vi khuẩn bằng phương pháp lọc qua màng lọc giữ lại vi khuẩn hay phương pháp sản xuất vô khuẩn. Trong mọi trường hợp, vật chứa và nút đậy phải có khả năng duy trì được tính vô khuẩn của sản phẩm cho đến khi hết hạn dùng.

Mức bảo đảm vô khuẩn

Sự khử khuẩn bằng tác nhân vật lý và hóa học tuân theo qui luật số mũ, do đó luôn luôn có khả năng còn vi sinh vật sống tồn tại trong sản phẩm sau khi tiệt

khuẩn với một xác suất thống kê nhất định. Mức bảo đảm vô khuẩn SAL (sterility assurance level) của một qui trình tiệt khuẩn đã cho là xác suất tồn tại một đơn vị đóng gói không vô khuẩn trong toàn bộ lô sản phẩm sau khi tiệt khuẩn bằng qui trình đó. Ví dụ: $SAL = 10^{-6}$ có nghĩa là có khả năng có không nhiều hơn một vi sinh vật sống trong 1×10^6 đơn vị đóng gói của sản phẩm đã tiệt khuẩn. Đối với một qui trình tiệt khuẩn đã cho, SAL phụ thuộc số lượng vi sinh vật có trong sản phẩm trước khi tiệt khuẩn, sức đề kháng của nó với tác nhân tiệt khuẩn và môi trường trong đó vi sinh vật tồn tại trong quá trình xử lý. Khi có thể, sử dụng mức bảo đảm vô khuẩn SAL để đánh giá hiệu quả tiệt khuẩn của các phương pháp mô tả trong chuyên luận này. SAL của mỗi qui trình tiệt khuẩn được thiết lập trong khi thẩm định qui trình.

Phương pháp và điều kiện tiệt khuẩn

Tiến hành tiệt khuẩn theo một trong các phương pháp giới thiệu dưới đây. Có thể cải tiến hoặc kết hợp các phương pháp đã giới thiệu, tuy nhiên phải tiến hành thẩm định phương pháp đã cải tiến để bảo đảm hiệu quả tiệt khuẩn của phương pháp cũng như để đảm bảo tính toàn vẹn của sản phẩm cần tiệt khuẩn, bao gồm cả bao bì sản phẩm. Đối với mọi phương pháp tiệt khuẩn, phải theo dõi các thông số vận hành quan trọng trong suốt quá trình tiệt khuẩn của mỗi lô sản phẩm nhằm đảm bảo các thông số đo được phù hợp với các thông số kỹ thuật đã thiết lập trước đó trong quá trình thẩm định phương pháp, kể cả trường hợp tiệt khuẩn trong điều kiện chuẩn.

Phương pháp tiệt khuẩn thành phẩm

Đối với phương pháp tiệt khuẩn thành phẩm, điểm quan trọng cần phải chú ý là sự phân bố không đồng đều của tác nhân tiệt khuẩn trong buồng tiệt khuẩn. Phải xác định được vị trí trong buồng tiệt khuẩn mà tác nhân tiệt khuẩn khó đến nhất (ví dụ vị trí có nhiệt độ thấp nhất trong nồi hấp) để bố trí sắp xếp sản phẩm có kiểu dáng và kích thước bao bì khác nhau.

Tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm

Phương pháp tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm được tiến hành trong một thiết bị chuyên dùng gọi là nồi hấp, tác nhân tiệt khuẩn là hơi nước bão hòa dưới áp suất cao. Đây là phương pháp ưu tiên chọn lựa, khi có thể, nhất là đối với các dung dịch nước. Điều kiện chuẩn của phương pháp tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm là đun nóng ở 121°C trong ít nhất 15 phút đối với các thành phẩm là dung dịch nước. Có thể tiến hành tiệt khuẩn ở điều kiện nhiệt độ và thời gian khác với điều kiện chuẩn nếu chứng minh được hiệu quả của chế độ tiệt khuẩn đã chọn. Phải khống chế số lượng vi sinh vật trong sản phẩm trước khi tiệt khuẩn bằng cách áp dụng qui trình sản xuất và các biện pháp phòng ngừa thích hợp để đạt được mức bảo đảm vô khuẩn SAL là 10^{-6} hay nhỏ hơn.

Trong quá trình tiệt khuẩn, phải theo dõi và ghi chép lại nhiệt độ và áp suất bên trong nồi hấp. Nhiệt độ thường được theo dõi bằng các đầu dò nhiệt đặt ở phần nguội nhất của nồi hấp. Thông số vận hành của mỗi chu trình tiệt khuẩn được ghi lại dưới dạng biểu đồ nhiệt độ - thời gian, hay bằng một cách thích hợp khác.

Khi đánh giá hiệu quả của quá trình tiệt khuẩn bằng phương pháp sinh học, dùng chỉ thị sinh học thích hợp theo Phụ lục 16.2 Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn.

Tiệt khuẩn bằng nhiệt khô

Tiệt khuẩn bằng nhiệt khô được thực hiện trong tủ sấy có gắn thiết bị đối lưu không khí để đảm bảo sự phân phối nhiệt đồng đều trong toàn bộ khoang tiệt khuẩn. Điều kiện chuẩn của phương pháp tiệt khuẩn bằng nhiệt khô là sấy ở nhiệt độ tối thiểu 160 °C trong ít nhất 2 giờ. Có thể tiến hành tiệt khuẩn ở điều kiện nhiệt độ và thời gian khác với điều kiện chuẩn nếu chứng minh được hiệu quả của chế độ tiệt khuẩn đã chọn. Phải khống chế số lượng vi sinh vật trong sản phẩm trước khi tiệt khuẩn bằng cách áp dụng qui trình sản xuất và các biện pháp phòng ngừa thích hợp để đạt được mức bảo đảm vô khuẩn SAL là 10^{-6} hay nhỏ hơn.

Trong quá trình tiệt khuẩn phải tiến hành theo dõi nhiệt độ bên trong tủ sấy. Nhiệt độ thường được đo bằng các đầu dò nhiệt đặt ở phần nguội nhất của tủ sấy. Phải ghi chép và lưu trữ thông số nhiệt độ của mỗi chu trình tiệt khuẩn.

Khi đánh giá hiệu quả của quá trình tiệt khuẩn bằng phương pháp sinh học, dùng chỉ thị sinh học thích hợp theo Phụ lục 16.2 Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn.

Tiệt khuẩn và khử chất gây sốt các dụng cụ thủy tinh thường tiến hành ở nhiệt độ cao hơn 220 °C. Trong trường hợp này, có thể thay chỉ thị sinh học bằng nội độc tố vi khuẩn bền nhiệt. Để kiểm tra quá trình tiệt khuẩn, cấy một hay nhiều vật liệu cần tiệt khuẩn với ít nhất 1000 đơn vị nội độc tố vi khuẩn. Lượng nội độc tố còn lại sau khi sấy tiệt khuẩn phải không được nhiều hơn 1/1000 so với lượng nội độc tố ban đầu (xem Phụ lục 13.2. Phép thử nội độc tố vi khuẩn).

Tiệt khuẩn bằng bức xạ ion hóa

Phương pháp này được tiến hành bằng cách cho sản phẩm trong bao bì cuối tiếp xúc với bức xạ ion hóa. Hai nguồn bức xạ ion hóa thường dùng là: tia γ phát ra từ nguồn phóng xạ thích hợp (ví dụ đồng vị phóng xạ Cobalt 60), và chùm electron năng lượng cao được gia tốc bởi máy gia tốc electron.

Đối với phương pháp tiệt khuẩn bằng bức xạ ion hóa, liều hấp thu chuẩn là 25 kGy. Có thể tiến hành tiệt khuẩn với liều hấp thu khác với liều hấp thu chuẩn nếu chứng minh được hiệu quả của chế độ tiệt khuẩn đã chọn. Phải khống chế số lượng vi sinh vật trong sản phẩm trước khi tiệt khuẩn bằng cách áp dụng qui trình

sản xuất và các biện pháp phòng ngừa thích hợp để đạt được mức bảo đảm vô khuẩn SAL là 10^{-6} hay nhỏ hơn.

Trong quá trình tiệt khuẩn phải định kỳ đo bức xạ hấp thu bởi sản phẩm cần tiệt khuẩn bằng thiết bị đo liều thích hợp. Thiết bị đo liều phải được hiệu chỉnh với nguồn bức xạ chuẩn ít nhất mỗi năm một lần.

Khi đánh giá hiệu quả của quá trình tiệt khuẩn bằng phương pháp sinh học, dùng chỉ thị sinh học thích hợp theo Phụ lục 16.2. Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn.

Tiệt khuẩn bằng chất khí

Chất khí thường dùng trong phương pháp này là ethylen oxyd. Đây là loại khí dễ cháy, có khả năng gây đột biến và có thể để lại vết chất độc trong vật liệu đem tiệt khuẩn, do đó chỉ nên chọn phương pháp này khi không thể chọn phương pháp nào khác. Phải có biện pháp thích hợp để bảo đảm sự thẩm thấu của khí và hơi ẩm vào bên trong vật liệu cần tiệt khuẩn cũng như làm giảm lượng ethylen oxyd hoặc sản phẩm phân hủy của nó trong sản phẩm đã tiệt khuẩn xuống dưới mức có thể gây nguy hiểm khi sử dụng sản phẩm.

Khi có thể, nên theo dõi và ghi chép nồng độ khí, độ ẩm tương đối, nhiệt độ và thời gian tiệt khuẩn của mỗi lô tiệt khuẩn.

Đánh giá hiệu quả của mỗi lô tiệt khuẩn bằng chỉ thị sinh học thích hợp (xem Phụ lục 16.2 Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn).

Tiệt khuẩn bằng phương pháp lọc

Phương pháp lọc thường được dùng để tiệt khuẩn các dung dịch kém bền nhiệt, không thể tiệt khuẩn trong bao bì cuối. Nguyên tắc của phương pháp là dẫn dung dịch cần tiệt khuẩn qua vật liệu lọc có khả năng giữ vi khuẩn. Vật liệu lọc thường dùng là các màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,22 μ m hay nhỏ hơn, có khả năng giữ lại 100 % vi khuẩn *Pseudomonas diminuta* (ATCC 19146, NCIMB 11091, CIP 103020) trong điều kiện thí nghiệm thích hợp. Kiểm tra khả năng giữ khuẩn của màng lọc bằng cách lọc qua màng lọc một hỗn dịch vi khuẩn *Pseudomonas diminuta* trong môi trường nuôi cấy tryptone soya broth, hay môi trường dinh dưỡng tương đương, có nồng độ thích hợp sao cho mỗi cm² bề mặt màng lọc có ít nhất 10^7 cfu và tốc độ lọc lớn hơn 30 Psi. Ủ dịch lọc ở 32 °C trong điều kiện hiếu khí, phải không được có vi khuẩn phát triển. Qui trình sản xuất và môi trường sản xuất các sản phẩm tiệt khuẩn bằng phương pháp lọc phải được thiết kế thích hợp để giảm thiểu tối đa sự nhiễm khuẩn. Phải thường xuyên kiểm tra chất lượng môi trường sản xuất bằng một chương trình giám sát chất lượng môi trường đã được thẩm định. Các máy móc, thiết bị, vật chứa và nắp đậy phải được tiệt khuẩn trước khi sử dụng bằng phương pháp thích hợp. Vị trí lọc tiệt khuẩn nên bố trí càng gần nơi đóng ống càng tốt và

thời điểm tiệt khuẩn nên bố trí càng gần thời điểm đóng ống càng tốt. Tất cả các thao tác sau khi lọc tiệt khuẩn phải thực hiện trong điều kiện vô khuẩn.

Cần có biện pháp thích hợp để tránh sự hấp thu hoạt chất trên màng lọc, cũng như để tránh sự thôi tập chất từ màng lọc vào dịch lọc.

Trước khi lọc phải kiểm tra để đảm bảo màng lọc không bị rách trong quá trình lắp ráp và tiệt khuẩn hệ thống lọc, sau khi lọc xong cũng phải kiểm tra tính toàn vẹn của màng lọc bằng phương pháp thích hợp, ví dụ phương pháp đo áp suất điểm sủi bọt (bubble-point test) hay phương pháp đo chênh áp suất trước và sau khi qua màng lọc (pressure hold test).

Vì hiệu quả của quá trình lọc tiệt khuẩn phụ thuộc vào số lượng vi sinh vật trong sản phẩm trước khi lọc nên nếu không thể làm giảm số lượng vi sinh vật bằng phương pháp khác, nên lọc trước dung dịch cần tiệt khuẩn qua tiền lọc có khả năng giữ vi khuẩn.

Sản xuất vô khuẩn

Trong quá trình sản xuất vô khuẩn, sản phẩm chờ đóng gói, vật chứa rỗng và nắp đậy được tiệt khuẩn riêng rẽ sau đó kết hợp với nhau trong điều kiện vô khuẩn để thu được sản phẩm cuối. Bởi vì sản phẩm đã đóng gói không được tiệt khuẩn bổ sung bằng bất kỳ phương pháp nào khác nên quá trình sản xuất phải tiến hành trong điều kiện môi trường có chất lượng rất cao. Trước khi phối hợp, mỗi thành phần của sản phẩm cuối phải được tiệt khuẩn riêng bằng phương pháp thích hợp, ví dụ bằng nhiệt khô với vật chứa bằng thủy tinh, bằng nhiệt ẩm với nắp đậy bằng nhựa và bằng phương pháp lọc đối với các dung dịch. Để duy trì tính vô khuẩn của mỗi thành phần trong quá trình sản xuất phải chú ý đến các yếu tố sau:

Môi trường sản xuất;

Con người;

Các bề mặt tiếp xúc trực tiếp với sản phẩm hờ;

Quy trình tiệt khuẩn các vật liệu bao gói và quy trình vận chuyển chúng vào khu vực đóng gói;

Thời gian lưu trữ tối đa của sản phẩm chờ đóng gói trước khi đóng vào bao bì cuối.

Để đảm bảo tính vô khuẩn của thành phẩm, cả quy trình tiệt khuẩn và quy trình đóng gói đều phải được thẩm định bằng phương pháp thích hợp trước khi áp dụng trong thực tế. Thẩm định quy trình đóng gói phải bao gồm thử nghiệm dùng môi trường dinh dưỡng nuôi cấy vi sinh vật thay cho sản phẩm thật (media fill test). Phải lấy mẫu để kiểm tra độ vô khuẩn tất cả các lô của bất kỳ sản phẩm nào được tiệt khuẩn bằng phương pháp lọc và/hoặc sản xuất vô khuẩn trước khi xuất xưởng (Xem Phụ lục 13.7 Thử vô khuẩn để biết thêm chi tiết).

16.2 CHỈ THỊ SINH HỌC DÙNG CHO TIỆT KHUẨN

Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn là những chế phẩm sinh học đã tiêu chuẩn hóa, được sản xuất từ các vi sinh vật chọn lọc, dùng để đánh giá hiệu quả của các qui trình tiệt khuẩn. Chỉ thị sinh học thường được sản xuất bằng cách cấy một lượng bào tử vi sinh vật chỉ thị lên vật mang trợ, ví dụ bằng giấy lọc, bản mỏng thủy tinh hay ống plastic, sau đó đóng gói vật mang đã cấy khuẩn vào bao bì thích hợp nhằm bảo vệ sản phẩm tránh bị biến chất và tạp nhiễm. Vật liệu dùng làm bao gói phải bền, không bị phân hủy trong quá trình tiệt khuẩn, nhưng phải cho tác nhân tiệt khuẩn thấm vào bên trong để tiếp xúc với vi khuẩn. Hỗn dịch bào tử vi khuẩn đóng trong ống thủy tinh kín cũng có thể được dùng làm chỉ thị sinh học.

Đối với các chế phẩm lỏng, có thể cấy trực tiếp bào tử vi khuẩn chỉ thị vào một số đơn vị đóng gói đại diện của sản phẩm cần tiệt khuẩn hay vào chất lỏng có thành phần gần giống sản phẩm, nếu không thể cấy trực tiếp vào sản phẩm thật. Trong trường hợp này, phải có biện pháp kiểm tra thích hợp để đảm bảo bản thân chế phẩm hay sản phẩm giả đều không có khả năng ức chế vi khuẩn chỉ thị.

Các thông tin bắt buộc phải cung cấp kèm theo mỗi chỉ thị sinh học bao gồm: tên loài vi khuẩn dùng làm vi sinh vật đối chiếu, số định danh loài của bảo tàng giống gốc, số lượng bào tử sống trên mỗi vật mang, hạn dùng và trị số D. Trị số D là tham số tiệt khuẩn (khoảng thời gian hoặc liều hấp thụ) cần để làm giảm lượng bào tử sống xuống còn 10 % so với lượng ban đầu. Chỉ thị sinh học có thể gồm hai hay nhiều loài vi khuẩn trên một vật mang, nhưng không được lẫn tạp khuẩn. Ngoài ra, trên nhãn chỉ thị sinh học phải cung cấp thông tin về môi trường nuôi cấy và điều kiện ủ.

Để kiểm tra một qui trình tiệt khuẩn, đặt chỉ thị sinh học tại vị trí được giả định, hoặc đã được xác định trước bằng phương pháp vật lý thích hợp khi có thể, là nơi mà tác nhân tiệt khuẩn khó luân chuyển đến nhất trong buồng tiệt khuẩn. Sau khi cho tiếp xúc với tác nhân tiệt khuẩn, chuyển vật mang vào trong môi trường dinh dưỡng thích hợp trong điều kiện vô khuẩn và đem ủ. Đối với chỉ thị sinh học đóng trong ống thủy tinh kín có chứa sẵn môi trường dinh dưỡng thì đem ủ ngay.

Các vi khuẩn chỉ thị được chọn lựa theo nguyên tắc:

- Sức đề kháng của vi khuẩn chỉ thị đối với phương pháp tiệt khuẩn đã cho phải lớn hơn sức đề kháng của tất cả các vi khuẩn gây bệnh và các vi khuẩn có khả năng nhiễm vào sản phẩm cần tiệt khuẩn;
- Không gây bệnh;
- Dễ nuôi cấy.

Sau khi ủ, nếu quan sát thấy vi khuẩn chỉ thị phát triển, chứng tỏ qui trình tiệt khuẩn đã sử dụng không đạt yêu cầu.

1. Tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm

Chỉ thị sinh học được dùng để thẩm định qui trình tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm là bào tử của vi khuẩn *Bacillus stearothermophilus* (ví dụ: ATCC 7953, NCTC 10007, NCIMB 8157, hay CIP 52.81). Số lượng bào tử sống trên mỗi vật mang phải từ 5×10^5 trở lên. Trị số D ở $121^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ (ký hiệu D_{121}) phải lớn hơn 1,5 phút. Phải kiểm tra để bảo đảm ở chế độ tiệt khuẩn ở $121^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ trong 6 phút chỉ thị sinh học vẫn còn vi khuẩn sống, nhưng bị diệt hoàn toàn ở chế độ tiệt khuẩn $121^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ trong 15 phút.

2. Tiệt khuẩn bằng nhiệt khô

Chỉ thị sinh học được dùng để thẩm định qui trình tiệt khuẩn bằng nhiệt khô là bào tử của vi khuẩn *Bacillus subtilis* (ví dụ: var. *niger* ATCC 9372, NCIMB 8058, CIP 77.18). Số lượng bào tử sống trên mỗi vật mang không được ít hơn 1×10^5 và trị số D ở 160°C phải từ 1 phút đến 3 phút. Trong trường hợp tiệt khuẩn ở nhiệt độ cao hơn 220°C , ví dụ tiệt khuẩn và khử chất gây sốt các dụng cụ thủy tinh, có thể dùng nội độc tố vi khuẩn bền nhiệt thay cho bào tử vi khuẩn (xem Phụ lục 16.1. Các phương pháp tiệt khuẩn để biết thêm chi tiết).

3. Tiệt khuẩn bằng bức xạ ion hóa

Chỉ thị sinh học có thể được sử dụng để kiểm tra mỗi lô tiệt khuẩn trong điều kiện sản xuất bình thường như một biện pháp bổ sung để thẩm định phương pháp tiệt khuẩn bằng bức xạ ion hóa. Thường dùng bào tử của vi khuẩn *Bacillus pumilus* (ví dụ: ATCC 27.142, NCTC 10327, NCIMB 10692, CIP 77.25). Số lượng bào tử sống trên mỗi vật mang không được ít hơn 1×10^7 . Trị số D không được nhỏ hơn 1,9 kGy. Phải kiểm tra để bảo đảm không còn vi khuẩn sống sau khi cho chỉ thị sinh học tiếp xúc với bức xạ ion hóa ở liều hấp thu 25 kGy (liều hấp thu tối thiểu).

4. Tiệt khuẩn bằng chất khí

Chỉ thị sinh học được sử dụng trong tất cả các qui trình tiệt khuẩn bằng chất khí, cả trong thẩm định hiệu quả tiệt khuẩn của qui trình lẫn trong điều kiện vận hành bình thường. Với tác nhân tiệt khuẩn là ethylen oxyd, thường dùng bào tử của vi khuẩn *Bacillus subtilis* (ví dụ: var. *niger* ATCC 9372, NCIMB 8058, CIP 77.18). Số lượng bào tử sống trên mỗi vật mang không được ít hơn 5×10^5 . Trị số D phải lớn hơn 2,5 phút khi tiến hành tiệt khuẩn ở 54°C , độ ẩm tương đối là 60 % và nồng độ ethylen oxyd trong khí mang là 600 mg/l. Phải kiểm tra để bảo đảm không còn vi khuẩn sống sau khi xử lý chỉ thị sinh học trong 60 phút

ở điều kiện nêu trên, nhưng phải còn vi khuẩn sống khi xử lý trong 15 phút ở 30°C (30°C , độ ẩm tương đối là 60 %, 600 mg/l). Để kiểm tra khả năng sức đề kháng của bào tử với tác nhân tiệt khuẩn khi thiếu độ ẩm, cho chỉ thị sinh học tiếp xúc với ethylen oxyd nồng độ 600 mg/l ở nhiệt độ 54°C trong 60 phút không có độ ẩm, phải còn vi khuẩn sống.

PHỤ LỤC 17

ĐỒ ĐỰNG DÙNG CHO CHẾ PHẨM DƯỢC

Đồ đựng dùng cho chế phẩm dược hay bao bì đựng thuốc là phần gắn bó hữu cơ với cấu trúc của dạng bào chế vì chúng giữ thuốc ở liều lượng mong muốn và đảm bảo cho thuốc ổn định chất lượng ở nhiều chỉ tiêu liên quan. Mặt trong của đồ đựng thuốc do tiếp xúc trực tiếp với thuốc nên phải được chọn lựa cẩn thận để khi dùng không ảnh hưởng tới bản chất, độ ổn định của thuốc trong quá trình chứa đựng, vận chuyển, bảo quản dù chỉ là thời gian ngắn. Việc làm kín như hàn ống thủy tinh hay nút, nắp và xi sếp kín cũng là một phần của đồ đựng. Những yêu cầu khái quát về đồ đựng đã được ghi trong mục những quy định chung. Chuyên luận này cung cấp những thông tin cần thiết và cung cấp những tiêu chuẩn cần đáp ứng đối với những nguyên liệu chính như thủy tinh và chất dẻo dùng để chế tạo bao bì đựng thuốc.

17.1 ĐỒ ĐỰNG BẰNG THỦY TINH DÙNG CHO CHẾ PHẨM DƯỢC

Đồ đựng bằng thủy tinh dùng cho chế phẩm dược là vật dụng mà mặt trong của chúng tiếp xúc trực tiếp với thuốc, nên tùy vào bản chất của thuốc mà chọn loại thủy tinh thích hợp để chế tạo đồ đựng. Trước khi đóng thuốc, đồ đựng phải được xử lý đạt độ sạch theo yêu cầu của từng dạng thuốc như giới hạn hạt bụi và vi sinh vật...

Đồ đựng thủy tinh có thể là đồng chất như ống tiêm, nhưng với chai lọ thì phải có nắp, nút thích hợp bằng thủy tinh hoặc vật liệu khác, như cao su, chất dẻo... Nhóm đồ đựng chế tạo từ thủy tinh có nhiều loại như: Chai, lọ, ống, bơm tiêm...

Chai, lọ đựng thuốc

Chai, lọ đựng thuốc là loại đồ đựng có thành tương đối dày và được đóng kín bằng một loại nắp, nút và các phụ tùng thích hợp. Nút có thể là thủy tinh, cao su hoặc chất dẻo. Những chất đựng ở trong chai, lọ có thể được lấy ra dùng một lần (bao bì đơn liều) hoặc nhiều lần (đồ đựng đa liều). Chai lọ có thể in, khắc vạch đánh dấu thể tích. Riêng với chai đựng thuốc tiêm truyền và các chế phẩm tương tự phải khắc vạch đánh dấu thể tích từ 2 hướng lên xuống theo chiều cao của chai.

Chai lọ đựng thuốc tiêm phải dùng loại thủy tinh trung tính phù hợp, trong suốt, không màu hoặc trường hợp thủy tinh có xử lý đặc biệt có thể làm thủy tinh hơi mờ

nhưng vẫn phải giữ mức trong suốt đủ để quan sát thuốc đựng bên trong.

Chai lọ bằng thủy tinh để đựng thuốc đặc biệt như khí dung ở áp suất cao phải được chế tạo đặc biệt để chịu áp lực cao của khí đẩy và an toàn như độ dày hoặc bao bọc chai lọ bằng nhựa.

Chai lọ đựng máu và những chế phẩm của máu

Là những đồ đựng hình trụ, có thành dày thích hợp đáp ứng yêu cầu về độ bền trong điều kiện sử dụng, có dung tích khác nhau và là những thủy tinh trung tính, trong, không màu.

Ống tiêm rỗng

Là ống có thành mỏng, đầu và miệng ống có thể thuôn nhỏ hoặc cổ bông miệng loe, miệng ống để hở và được hàn kín sau khi đã đóng đủ thuốc.

Thuốc ở trong ống thường chỉ lấy ra dùng một lần.

Ống đựng thuốc tiêm phải dùng loại thủy tinh trung tính phù hợp.

Cũng có thể sản xuất ống tiêm rỗng đạt độ sạch theo yêu cầu và hàn kín. Khi đóng thuốc, ống được đưa vào máy tự động đốt cắt làm hở miệng ống và đóng thuốc, hàn kín.

Bơm tiêm đựng thuốc bằng thủy tinh

Bơm tiêm bằng thủy tinh để đựng thuốc có thể gặp trong thực tế, theo đó thuốc được đóng trong bơm tiêm và cung cấp đi liền với kim tiêm và phụ tùng khác. Đó là loại đồ đựng đặc biệt dùng cho một số loại thuốc tiêm phân liều, thường ở dạng lỏng và được đóng gói kín, vô trùng, dùng một lần.

Chất lượng của thủy tinh

Thủy tinh là muối silicat như natri silicat, calci silicat... chế tạo bằng cách nấu chảy hỗn hợp của silic oxyd (SiO_2) và các chất phụ gia. Thủy tinh thường trong suốt, không màu. Thủy tinh màu là có thêm một lượng nhỏ oxyd kim loại mà sự lựa chọn tùy thuộc vào sự hấp thụ quang phổ người ta mong muốn.

Thủy tinh trung tính chứa một lượng đáng kể bor oxyd, nhôm oxyd thay cho một phần oxyd kim loại kiềm. Do thành phần khác biệt của chúng nên thủy tinh trung tính có độ bền với nhiệt cao và độ bền với nước rất cao.

Thủy tinh kiềm chứa oxyd kim loại kiềm, chủ yếu là natri oxyd và oxyd kim loại kiềm thổ, chủ yếu là calci oxyd. Với những thành phần như vậy nên thủy tinh kiềm có độ bền với nước vừa phải.

Độ bền hoá học của đồ đựng thủy tinh đối với thuốc được biểu thị bằng độ bền với nước trong những điều kiện quy định của thử nghiệm. Khi tiếp xúc với nước, thủy tinh có thể giải phóng, hòa tan những chất gốc kim loại từ cấu trúc phân tử của thủy tinh nhất là ion natri và ion kim loại kiềm, kiềm thổ tạo ra dịch có tính kiềm ít nhiều. Định lượng độ kiềm này có thể đánh giá

được độ bền với nước của thủy tinh, qua đó phân loại và chọn loại đồ đựng thủy tinh phù hợp với dạng thuốc. Khi thử nghiệm bằng cách cho nước tiếp xúc với mặt trong của đồ đựng trong điều kiện quy định, sau đó định lượng độ kiềm của dịch, kết quả này gọi là độ kiềm hay độ bền bề mặt của đồ đựng. Khi thử nghiệm bằng cách đập vỡ bao bì bằng thủy tinh rồi lấy lượng chính xác, tán bột và cho tiếp xúc với nước trong điều kiện quy định, sau đó định lượng độ kiềm của dịch, kết quả này gọi là độ kiềm hay độ bền tổng cộng của vật liệu làm đồ đựng.

Chuyên luận này quy định đánh giá độ bền bề mặt với nước của đồ đựng thủy tinh và được tiến hành bằng chuẩn độ kiềm giải phóng ra trong điều kiện xác định. Tùy theo độ bền bề mặt với nước mà đồ đựng thủy tinh được phân loại theo các cấp như sau:

Đồ đựng thủy tinh cấp I: Là thủy tinh trung tính có độ bền với nước cao do thành phần hóa học của thủy tinh.

Đồ đựng thủy tinh cấp II: Thường là thủy tinh kiềm đã xử lý bề mặt thích hợp nên có độ bền với nước khá cao.

Đồ đựng thủy tinh cấp III: Thường là thủy tinh kiềm, chỉ có độ bền với nước vừa phải.

Đồ đựng thủy tinh cấp IV: Thường là thủy tinh kiềm, có độ bền với nước ở mức thấp.

Nhà sản xuất thuốc phải chịu trách nhiệm chọn những đồ đựng thích hợp cho từng loại thuốc khác nhau.

Đồ đựng thủy tinh cấp I nói chung thích hợp với tất cả những chế phẩm tiêm, máu và những sản phẩm của máu.

Đồ đựng thủy tinh cấp II nói chung thích hợp cho những chế phẩm có tính acid hay trung tính dùng để tiêm.

Đồ đựng thủy tinh cấp III nói chung thích hợp cho những chế phẩm không có nước hay thuốc dung môi dầu dùng để tiêm, những bột dùng để tiêm và những chế phẩm dùng ngoài đường tiêm.

Đồ dùng thủy tinh cấp IV hay gọi là thủy tinh thường, chỉ dùng cho những chế phẩm không dùng để tiêm.

Có thể dùng thủy tinh màu hay không màu cho những chế phẩm không dùng để tiêm.

Các thuốc tiêm thường được đóng trong đồ đựng thủy tinh không màu.

Đồ đựng thủy tinh màu cũng có thể được dùng cho những thuốc tiêm chứa hoạt chất nhạy cảm với ánh sáng. Những đồ đựng thủy tinh cho chế phẩm để tiêm dù ở dạng lỏng hoặc bột đều phải đảm bảo cho việc quan sát kiểm tra được tính chất cảm quan của thuốc đựng ở bên trong.

Những đồ đựng thủy tinh cho chế phẩm tiêm không được đem dùng lại, trừ đồ đựng thủy tinh cấp I, thường là chai, lọ nhưng phải có những quy định cụ thể cho vấn đề này. Những đồ đựng thủy tinh để đựng

máu và những sản phẩm từ máu thì không được dùng lại.

Mặt trong của đồ đựng thủy tinh để đóng thuốc có thể được xử lý đặc biệt để cải thiện độ bền đối với nước hoặc tạo ra tính không thấm nước... nhưng phải chứng minh tính an toàn của các biện pháp này. Mặt ngoài cũng có thể được xử lý để làm giảm độ ma sát và tăng khả năng chống sự mài mòn, nhưng không để nhiễm bẩn mặt trong.

Khi những đồ đựng thuốc bằng thủy tinh có những bộ phận không phải thủy tinh thì chỉ áp dụng những thử nghiệm đối với phần thủy tinh của đồ đựng.

ĐỘ BỀN ĐỐI VỚI NƯỚC CỦA MẶT TRONG ĐỒ ĐỰNG BẰNG THỦY TINH

Phép thử này đánh giá độ bền bề mặt trong của đồ đựng bằng thủy tinh đối với nước và chỉ áp dụng cho đồ đựng mới, chưa qua sử dụng.

Số lượng mẫu thử nghiệm và thể tích dung dịch cần lấy để định lượng phụ thuộc vào dung tích của đồ đựng, theo chỉ dẫn ở Bảng 17.1.1.

Bảng 17.1.1- Số lượng mẫu và thể tích dung dịch cần lấy để định lượng

Dung tích quy định của đồ đựng (ml)	Số lượng mẫu	Thể tích dung dịch để định lượng (ml)
Đến 5	Ít nhất 10	50,0
Trên 5 đến 30	Ít nhất 5	50,0
Trên 30	Ít nhất 3	100,0

Phương pháp thử

Rửa sạch mẫu ngay trước khi thử nghiệm bằng cách súc với *nước cất không có carbon dioxyd (TT)* ít nhất 3 lần. Đổ hết nước rửa ra và đóng nước cất không có khí carbon dioxyd vào trong đồ đựng với lượng quy định. Với chai, lọ thì đậy kín miệng bằng một đĩa thủy tinh trung tính hoặc giấy nhôm mà trước đó đã rửa sạch bằng *nước cất không có carbon dioxyd (TT)*. Với ống thì hàn kín bằng đèn gas. Đặt đồ đựng đã đóng đầy nước cất vào khay của nồi hấp, các khay không được chạm vào nước trong nồi và nước của nồi hấp phải là nước cất. Đậy chặt nắp nồi hấp. Điều chỉnh nhiệt độ của nồi như sau:

Đề ở 100 °C trong 10 phút cho khí trong nồi thoát ra hết qua van xả.

Nâng nhiệt độ từ 100 °C lên 121 °C trong 20 phút.

Duy trì nhiệt độ 121 °C ± 1 °C trong 60 phút.

Hạ nhiệt độ từ 121 °C xuống 100 °C trong khoảng 40 phút, thông hơi để tránh chân không.

Lấy mẫu thử ra khỏi nồi hấp theo các thao tác chung và làm nguội nhanh mẫu bằng nước thường. Thời gian tiến hành định lượng trong vòng 60 phút sau khi lấy ra khỏi nồi hấp. Lấy dung dịch ra khỏi đồ đựng và trộn lẫn với nhau. Cho vào một bình nón một lượng dung

dịch đã chỉ dẫn ở Bảng 17.1.1. Cho vào bình nón thứ 2 một lượng nước cất không có carbon dioxyd tương đương lượng dung dịch ở bình 1 (mẫu trắng). Thêm vào mỗi bình 0,05 ml dung dịch đỏ methyl (TT) tính cho mỗi 25 ml dung dịch thử. Định lượng bằng dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (CD) cho tới khi chuyển sang màu tương đương với màu của mẫu trắng. Số mililit dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT) dùng để trung hòa lượng kiềm do đồ đựng thủy tinh nhả vào nước là hiệu số giữa kết quả của mẫu thử và mẫu trắng và được gọi là độ bền đối với nước của mặt trong đồ đựng, được quy định theo 100 ml dung dịch sau khi hấp và đem định lượng. Giới hạn quy định cho thử độ bền đối với nước của đồ đựng thủy tinh đựng thuốc không được vượt quy định ở Bảng 17.1.2.

Bảng 17.1.2- Giới hạn quy định cho thử độ bền đối với nước của đồ đựng thủy tinh.

Dung tích của đồ đựng (ml)	Thể tích dung dịch acid hydrochloric 0,01 M tính cho 100 ml dung dịch thử (ml)	
	Thủy tinh cấp I hoặc cấp II	Thủy tinh cấp III
Đến 1	2,0	20,0
Trên 1 đến 2	1,8	17,6
Trên 2 đến 5	1,3	13,2
Trên 5 đến 10	1,0	10,2
Trên 10 đến 20	0,80	8,1
Trên 20 đến 50	0,60	6,1
Trên 50 đến 100	0,50	4,8
Trên 100 đến 200	0,40	3,8
Trên 200 đến 500	0,30	2,9
Trên 500	0,20	2,2

Ghi chú: Lượng nước đóng đủ vào đồ đựng thủy tinh khi thử nghiệm như sau:

Với chai, lọ: Đóng đến 90 % dung tích tràn đầy.

Với ống: Đóng đến vai của ống hay tương đương với dung tích của thuốc sẽ đóng vào ống theo quy định.

Phân biệt thủy tinh cấp I và cấp II

Số lượng mẫu thử nghiệm và thể tích dung dịch cần lấy để định lượng theo chỉ dẫn ở Bảng 17.1.1.

Phương pháp thử

Súc sạch đồ đựng 2 lần với nước, sau đó đóng đầy dung dịch acid hydrofluoric 4 % (tt/tt) và để yên 10 phút ở nhiệt độ phòng rồi đổ đi, súc lại đồ đựng bằng nước ít nhất 5 lần.

Tiến hành ngay thử nghiệm độ bền đối với nước của mặt trong đồ đựng. Kết quả thu được đem so sánh theo Bảng 17.1.2. Mẫu thủy tinh đã xử lý với acid hydrofluoric 4% (tt/tt) đạt cấp độ:

Thủy tinh cấp I: Nếu thể tích dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT) định lượng không vượt quá qui định cho thủy tinh cấp I hoặc cấp II ghi tại Bảng 17.1.2.

Thủy tinh cấp II: Nếu thể tích dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT) định lượng vượt quá qui định cho thủy tinh cấp I hoặc cấp II, nhưng không vượt quá dung dịch qui định cho thủy tinh cấp III, ghi tại Bảng 17.1.2.

Giới hạn arsen

Áp dụng cho đồ đựng thủy tinh đựng thuốc tiêm dung môi là nước.

Những ống thủy tinh phải thử nghiệm như sau: Tiến hành thử trên những ống đã được rửa 5 lần với nước vừa mới cất. Chuẩn bị một dung dịch thử như trong thử nghiệm Độ bền đối với nước với một số ống thích hợp để tạo ra 50 ml dịch thử.

Dùng ống hút để lấy 10 ml dung dịch thử cho vào bình nút mài, thêm 10 ml acid nitric (TT) và làm bay hơi cho tới khô trên cách thủy. Làm khô căn trong tủ sấy ở 130 °C trong 30 phút. Để nguội, thêm vào căn 10,0 ml dung dịch hydrazin molybdat lắc để hòa tan và đun 20 phút trên cách thủy có ống sinh hàn ngược. Để nguội tới nhiệt độ phòng. Xác định độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng cực đại khoảng 840 nm (Phụ lục 4.1) và dùng mẫu trắng là 10,0 ml dung dịch hydrazin molybdat.

Độ hấp thụ của dung dịch thử không được vượt quá độ hấp thụ của dung dịch chuẩn được chuẩn bị trong cùng điều kiện bằng cách dùng 0,1 ml dung dịch arsen mẫu 10 phần triệu As (TT) thay cho dung dịch thử.

Dung dịch hydrazin molybdat: Hòa tan 0,1 g amoni molybdat (TT) vào 10 ml nước có chứa 1,5 ml acid sulfuric (TT). Pha loãng thành 90 ml với nước, thêm 1 ml dung dịch hydrazin sulfat 0,15 % (TT) và thêm nước vừa đủ 100 ml.

17.2 ĐỒ ĐỰNG BẰNG KIM LOẠI CHO THUỐC MỠ TRA MẮT

Ống bằng kim loại có thể gấp được dùng đóng thuốc mỡ tra mắt phải đáp ứng thử nghiệm sau đây về tiêu phân kim loại:

Lấy ngẫu nhiên 50 ống trong một lô ống cần kiểm tra. Rửa sạch từng ống bằng máy rung hay máy thổi. Đun chảy một lượng tá dược thuốc mỡ tra mắt thích hợp và đóng đầy vào từng ống. Gấp kín đáy ống bằng 2 nếp gấp và để qua đêm ở nhiệt độ 15 °C đến 20 °C.

Dùng một hệ thống lọc chân không có lắp phễu lọc hình trụ bằng thép không gỉ hoặc bằng sứ, đáy phễu phẳng có đục nhiều lỗ thủng nhỏ, có thể đun nóng được, đường kính trong của phễu đặt vừa giấy lọc kích thước 4,25 cm. Cho vào phễu giấy lọc có lỗ xỏ thích hợp. Đun nóng phễu lên nhiệt độ cao hơn nhiệt độ nóng chảy của tá dược.

Mở nắp ống tá dược đã để qua đêm, dốc ngược ống, bóp đều từ phía đầu kín của ống cho tá dược đi qua đầu ống đã mở vào phễu đã đun nóng, thời gian bóp

hết ống tá được không dưới 20 giây, hút chân không để lọc. Bóp và lọc hết toàn bộ 50 ống. Khi đã lọc hết tá được chảy lỏng, rửa thành phễu và giấy lọc liên tiếp ba lần, mỗi lần với 30 ml cloroform. Để cho giấy lọc khô, kẹp giấy lọc giữa 2 phiến kính để quan sát.

Dùng một kính phóng đại có thước đo được chia ô vuông có cạnh 1 mm, mỗi cạnh lại được chia nhỏ thành 0,2 mm để quan sát giấy lọc dưới ánh sáng chiếu xiên góc. Đếm số tiểu phân quan sát được trong thị trường và ghi lại số tiểu phân kim loại dài từ 1 mm trở lên, số tiểu phân kim loại dài từ 0,5 mm đến dưới 1 mm và số tiểu phân kim loại dài từ 0,2 mm đến dưới 0,5 mm.

Thực hiện tiếp 2 lần nữa, việc quan sát giấy lọc ở 2 vị trí khác, sao cho ánh sáng chiếu tới từ các hướng khác nhau. Tính số trung bình của những tiểu phân kim loại đếm được ứng với 3 khoảng giới hạn kích thước nêu trên có trong 3 thị trường đã quan sát.

Mỗi tiểu phân kim loại phát hiện được trên giấy lọc ứng với một số điểm cụ thể như sau:

Tiểu phân từ 1mm trở lên	50 điểm
Tiểu phân từ 0,5 mm đến dưới 1 mm	10 điểm
Tiểu phân từ 0,2 mm đến dưới 0,5 mm	2 điểm
Tiểu phân dưới 0,2 mm	0 điểm

Cộng toàn bộ số điểm để đánh giá (không tính điểm đối với các tiểu phân dưới 0,2 mm).

Lô ống đạt yêu cầu nếu tổng số điểm dưới 100 điểm. Lô ống không đạt yêu cầu nếu tổng số điểm trên 150 điểm. Trường hợp tổng số điểm là từ 100 điểm đến 150 điểm, thì thử lại với 50 ống khác và lô thử đạt yêu cầu nếu tổng số điểm trong 2 lần thử ít hơn 150 điểm.

17.3 ĐỒ ĐỰNG VÀ NÚT BẰNG CHẤT DÈO

Chất dẻo hay nhựa dẻo là các hợp chất cao phân tử thiên nhiên hoặc tổng hợp. Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm được là những vật dụng được chế tạo theo khuôn mẫu phù hợp để đựng thuốc và mặt trong của chúng tiếp xúc trực tiếp với thuốc. Nếu đồ đựng là chai, lọ, ống hoặc loại tương tự thì thường phải có nút đi kèm. Nút để đậy kín đồ đựng là một phần của đồ đựng, đồng thời phải có biện pháp thích hợp như xi sáp, hàn... để khi đóng nút đồ đựng phải có độ kín đạt yêu cầu.

Ở phạm vi rộng hơn, đồ đựng chế tạo bằng chất dẻo còn có những loại khác không cần có nút để làm kín, như túi, ống hàn kín bằng nhiệt...

Nguyên liệu chất dẻo dùng chế tạo đồ đựng thuốc có thể là một hay phối chế từ nhiều polymer và có thể thêm một số chất. Những chất thêm vào có thể là chất chống oxy hóa, chất ổn định, chất làm dẻo, chất làm bóng, chất màu.

Đồ đựng và nút làm bằng chất dẻo có thể dùng để đựng nhiều dạng thuốc theo đường dùng khác nhau:

Đựng thuốc tiêm như chai, túi, ống.

Đựng thuốc nhỏ mắt, thuốc tra mắt như lọ, ống.

Đựng thuốc uống và thuốc dùng ngoài như chai, lọ, hoặc vài loại đặc biệt khác.

Các chất dẻo để chế tạo đồ đựng thuốc thường dùng như polyethylen (loại tỷ trọng thấp hoặc cao) ký hiệu là: PE, polypropylen ký hiệu là PP, polyvinyl clorid ký hiệu là PVC, ethylen vinyl acetat copolymer, polyethylen terphthalat...

Đồ đựng và nút làm bằng chất dẻo có nhiều ưu điểm như nhẹ, bền, rẻ tiền... nhưng cũng có những nhược điểm như có thể thấm hơi nước, thấm khí từ môi trường, chống tia cực tím không cao, nhả chất phụ gia có thể gây độc cho người sử dụng, làm ô nhiễm môi trường.

Yêu cầu chất lượng chung

Đồ đựng và nút làm bằng chất dẻo phải có chất lượng riêng biệt cho đồ đựng thuốc tiêm, đồ đựng thuốc nhỏ mắt, thuốc tra mắt và đồ đựng thuốc uống và thuốc dùng ngoài hay đồ đựng cho các dạng thuốc ngoài đường tiêm.

Những nguyên liệu làm đồ đựng không được có thành phần có thể chiết ra một lượng chất làm giảm hoạt lực và giảm tính ổn định hoặc làm tăng độc tính của thuốc. Những chất giảm tính điện, những chất giải phóng khuôn chỉ có thể dùng cho đồ đựng thuốc dùng ngoài khi được phép. Những nguyên liệu làm chất phụ gia nào được phép dùng phải mô tả đặc tính và được ghi trong Dược điển; những chất phụ gia khác cũng có thể được dùng nếu được cơ quan có thẩm quyền cho phép trong từng trường hợp.

Để chọn một đồ đựng bằng chất dẻo thích hợp và có thể đánh giá được khả năng rủi ro thì cần phải biết đầy đủ về công thức sản xuất chất dẻo đó, bao gồm tất cả những nguyên liệu cho thêm vào trong quá trình sản xuất đồ đựng. Đồ đựng bằng chất dẻo được lựa chọn cho bất kỳ một chế phẩm đặc biệt nào cũng phải đảm bảo các yêu cầu sau:

Khi đựng thuốc, chất dẻo không được hấp thụ hoạt chất thuốc lên bề mặt và không được để cho thuốc thấm vào trong chất dẻo.

Chất dẻo không được tạo ra một lượng chất đủ để làm ảnh hưởng đến sự bền vững của thuốc đựng ở trong hoặc tạo ra khả năng gây độc.

Để kiểm tra sự tương hợp của đồ đựng và chất đựng ở trong, đảm bảo không có sự thay đổi có hại đến chất lượng chế phẩm thì phải thực hiện nhiều phép thử khác nhau như: Kiểm tra không có sự thay đổi về tính chất lý học; xác định chất bị mất và chất được thêm do sự thấm hút, phát hiện sự thay đổi pH; đánh giá về những thay đổi gây ra bởi ánh sáng; những thử nghiệm hóa học và những thử nghiệm sinh học cần thiết.

- Những đồ đựng sản xuất hàng loạt phải phù hợp với mẫu vật về mọi phương diện. Chúng phải đảm bảo không có thay đổi về thành phần, về phương pháp sản xuất và quan trọng nhất là không dùng nguyên liệu phế loại. Những mẫu lấy từ nơi sản xuất phải được kiểm tra để đảm bảo phù hợp với vật mẫu.

Quy trình thử nghiệm hóa học, sinh học mô tả dưới đây được áp dụng cho đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm dược. Phải thấy rằng những thử nghiệm này chưa đủ để xác định độ an toàn hoặc sự thích hợp của đồ đựng bằng chất dẻo mà cần thiết phải xem xét kết quả những thử nghiệm kết hợp với thông tin ở trên. Nếu có rủi ro, nhà sản xuất phải xem xét lại tiêu chuẩn của đồ đựng và thành phần của chất dẻo hoặc chất lượng của thành phần bị hư hoặc quy trình sản xuất và chế biến bị thay đổi.

17.3.1 ĐỒ ĐỰNG BẰNG CHẤT Dẻo DÙNG CHO NHỮNG CHẾ PHẨM KHÔNG PHẢI THUỐC TIÊM

Những thử nghiệm chung

Độ kín

Đóng đầy 10 đồ đựng với nước, đậy chúng bằng những nút thích hợp, lộn ngược đồ đựng và giữ ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Bất cứ đồ đựng nào cũng phải không có hiện tượng rò rỉ.

Độ gấp uốn

Phép thử này áp dụng cho những đồ đựng có thể bóp để lấy những chất đựng ở trong ra. Khi bóp ống phải lấy ra ít nhất 90 % thể tích hay khối lượng chứa danh định với tốc độ chảy qui định ở nhiệt độ phòng.

Những thử nghiệm áp dụng cho đồ đựng thuốc lỏng để uống

Gồm 2 thử nghiệm là độ trong của nước chiết và cản không bay hơi.

Độ trong của nước chiết

Chọn những phần không có nhãn, không có vết in và không dát mỏng từ những đồ đựng thích hợp theo cách lấy tự nhiên để cho đủ diện tích tổng cộng của mẫu yêu cầu và phải tính diện tích của cả hai mặt. Cắt những phần này thành những miếng hẹp và dài, để không có mảnh nào có diện tích tổng cộng lớn hơn 20 cm². Rửa những mảnh này cho hết những chất ở bên ngoài bằng cách lắc chúng ít nhất 2 lần riêng biệt với nước, mỗi lần 30 giây, sau đó để ráo hết nước.

Chọn những phần đã cắt và đã rửa của mẫu thử, với diện tích bề mặt tổng cộng là 1250 cm², cho vào một bình [vừa mới được làm sạch với hỗn hợp acid cromic (TT) và rửa nhiều lần với nước] và thêm 250 ml nước. Đậy bình bằng một cốc và hấp ở 121 °C trong 30 phút. Làm một mẫu trắng để so sánh, dùng 250 ml nước. Để

nguội rồi quan sát nước chiết. Nước chiết phải không màu, không đục hơn mẫu trắng

Cản không bay hơi

Bốc hơi 100 ml nước chiết từ phép thử Độ trong của nước chiết tới khô, sấy ở 105 °C tới khối lượng không đổi. Cản không được nhiều hơn 12,5 mg.

Độ thấm hơi nước

Độ thấm hơi nước hay độ ngấm hơi nước qua bao bì có ảnh hưởng rất lớn đến các thuốc cần mức độ chống ẩm cao như thuốc nang, thuốc bột và những thuốc nhạy cảm khác... Do vậy tùy yêu cầu có thể thử nghiệm đặc tính này cho đồ đựng bằng nhựa như chỉ dẫn ở mục: Đồ đựng bằng chất dẻo cho chế phẩm tiêm (Phụ lục 17.3.2).

17.3.2 ĐỒ ĐỰNG BẰNG CHẤT Dẻo DÙNG CHO CHẾ PHẨM THUỐC TIÊM

Yêu cầu chung

Nguyên liệu

Chỉ những chất dẻo tinh khiết, không màu, không mùi, mới được dùng làm nguyên liệu để chế tạo đồ đựng thuốc tiêm. Đồ đựng thuốc tiêm có thể được chế tạo từ một hay nhiều polymer như polyethylen, polypropylen, polyvinyl clorid và có thể thêm các chất phụ gia để chống oxy hóa, làm trơn, hóa dẻo, ổn định nhưng không được dùng các chất để tạo màu.

Đặc tính

Đồ đựng phải đủ trong để kiểm tra được bằng mắt thường thuốc chứa bên trong. Đồ đựng đã đóng thuốc phải chịu được phương pháp tiệt khuẩn bằng nhiệt hoặc các phương pháp tiệt khuẩn khác. Sau khi tiệt khuẩn, đồ đựng không được có dấu hiệu bị co lại, méo mó, biến màu, mất độ trong, rạn nứt, chảy dính hoặc bất kỳ sự hư hỏng nào khác. Đồ đựng phải không cho vi sinh vật thâm nhập vào thuốc sau khi đã hàn kín. Đồ đựng có thể là túi hoặc chai có kích thước, hình dáng thích hợp cho việc sử dụng (có thể thêm các nút gấn, dây treo khi tiêm truyền).

Thử nghiệm về tính chất của đồ đựng

Thử độ kín, độ gấp uốn

Phải đáp ứng những thử nghiệm trong chuyên luận Đồ đựng chất dẻo cho những chế phẩm không phải thuốc tiêm (Phụ lục 17.3.1).

Độ trong của đồ đựng

Hỗn dịch chuẩn: Hòa tan 1,0 g hydrazin sulfat (TT) trong một ít nước, thêm nước vừa đủ 100 ml, để yên trong 6 giờ. Thêm 25,0 ml dung dịch hexamin 10 % (TT) vào 25 ml dung dịch này, trộn kỹ và để yên trong 24 giờ. Hỗn dịch thu được bên trong khoảng 2 tháng. Pha loãng 15 ml hỗn dịch này với nước vừa

đủ 1000 ml. Hỗn dịch chuẩn chỉ dùng trong vòng 24 giờ.

Pha loãng hỗn dịch chuẩn để thu được hỗn dịch có độ hấp thụ ở bước sóng khoảng 640 nm là 0,37 đến 0,43 (pha loãng khoảng 16 lần). Cho một thể tích hỗn dịch thu được bằng dung tích qui định vào 5 đồ đựng. Độ đục của hỗn dịch khi nhìn qua đồ đựng phải đục hơn so với nước cất đựng trong đồ đựng tương ứng.

Độ ngấm hơi nước

Cho nước vào 5 đồ đựng theo dung tích qui định và hàn kín bằng một miếng polyethylen, nhôm mỏng hay một cách khác thích hợp. Cân chính xác mỗi đồ đựng và để yên (không phủ gì ở trên) trong 14 ngày ở độ ẩm tương đối $60\% \pm 5\%$ và ở nhiệt độ trong khoảng $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ và $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Cân lại các đồ đựng. Khối lượng giảm đi không được vượt quá 0,2 %.

Những đồ đựng bằng chất dẻo polyvinyl clorid (PVC) dùng cho thuốc tiêm (tiêm truyền tĩnh mạch) phải đạt thêm những phép thử sau:

Chất di(2-ethylhexyl) phthalat chiết được: Không quá 0,010 % (kl/tt).

Dùng một ống cấp, kim hoặc bộ phận nối thích hợp. Cho vào đồ đựng một thể tích dung môi chiết bằng khoảng một nửa dung tích. Hút hết không khí ra và hàn kín ống cấp. Đặt đồ đựng theo hướng nằm ngang vào một nồi cách thủy và giữ nhiệt độ ở $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong $60\text{ phút} \pm 1\text{ phút}$, không lắc. Lấy đồ đựng ra khỏi nồi cách thủy, đảo ngược đồ đựng cẩn thận 10 lần và chuyển dịch chứa ở trong sang một bình thủy tinh. Đo ngay độ hấp thụ ở cực đại khoảng 272 nm (Phụ lục 4.1). Tính phần trăm của di(2-ethylhexyl) phthalat theo đường chuẩn.

Dung môi chiết: Ethanol đã pha loãng để có tỷ trọng tương đối từ 0,9373 đến 0,9378 và làm ấm tới $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong một bình có nút kín.

Đường chuẩn di(2-ethylhexyl) phthalat: Pha 5 dung dịch chuẩn có chứa 0,020 %; 0,010 %; 0,0050 %; 0,0020 %; 0,0010 % (kl/tt) di(2-ethylhexyl) phthalat trong dung môi chiết. Đo độ hấp thụ trong cùng điều kiện.

Thử nghiệm về chất liệu của đồ đựng

Dùng phần đồ đựng không có nhãn, không có vết in hoặc không bị dát mỏng hoặc hạt chất dẻo trong trường hợp đồ đựng được chế tạo đồng thời với quá trình đóng thuốc và hàn kín.

Bari

Làm ấm 2 g mẫu thử với *acid hydrochloric* (TT) và nung trong một chén bạch kim. Hòa tan tro trong 10 ml dung dịch *acid hydrochloric* 1 M, lọc và thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric* 1M (TT) vào dịch lọc. Độ đục không lớn hơn hỗn dịch đục chuẩn thu được bằng cách cho 1ml *dung dịch acid sulfuric* 1M (TT) vào một hỗn hợp

10 ml dung dịch bari chuẩn (10 phần triệu Ba) và 10 ml *dung dịch acid hydrochloric* 1M (TT).

Kim loại nặng

Cho 2,5 g mẫu thử vào một bình đáy tròn, cổ dài, thêm 20 ml *acid sulfuric* (TT) và đốt thành than trong khoảng 10 phút. Thêm từng giọt *nước oxy già* (100 thể tích) vào dung dịch nóng cho tới khi hết màu, đun nóng sau mỗi lần thêm cho tới khi có khói trắng bay lên. Để nguội, dùng 10 ml nước cất để chuyển hết cặn từ bình sang đĩa bạch kim và bốc hơi đến khô. Hòa tan cặn vào 10 ml *dung dịch acid hydrochloric* 1 M (TT). Lọc nếu cần, thêm *nước* để được 25 ml (dung dịch A). Thêm 1,2 ml *dung dịch thioacetamid* (TT) vào hỗn hợp gồm 10 ml dung dịch A và 2 ml *đệm acetat pH* 3,5 (TT), lắc trộn đều ngay và để yên trong 2 phút. Nếu dung dịch tạo thành có màu vàng, màu phải không được đậm hơn màu vàng thu được bằng cách dùng 10 ml *dung dịch cadmi mẫu 10 phần triệu Cd* (TT) thay cho dung dịch A. Nếu là màu nâu phải không được đậm hơn màu nâu thu được bằng cách dùng một hỗn hợp 5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb* (TT) và 5 ml *nước* thay cho dung dịch A.

Thiếc

Thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric* 20 % (TT), 1 ml *dung dịch natri dodecyl sulfat* 1 % (kl/tt) và 1 ml *thuốc thử kẽm dithiol* (TT) vào 10 ml dung dịch A trong phép thử kim loại nặng. Đun nóng trong nồi cách thủy đúng 1 phút. Làm nguội và để yên trong 30 phút. Nếu dung dịch tạo thành có màu đỏ thì không được đậm hơn màu đỏ thu được bằng cách dùng 10 ml *dung dịch thiếc mẫu 5 phần triệu Sn* (TT) thay cho dung dịch A.

Kẽm

Lấy 1 ml dung dịch A trong phép thử kim loại nặng, thêm *nước* cất vừa đủ 100 ml. Lấy 10 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml *dung dịch đệm acetat pH* 4,4 (TT) và 1 ml *dung dịch natri thiosulfat* 0,1 M (TT), 5 ml *dung dịch dithizon* 0,001 % trong *cloroform* (TT). Lắc và để yên 2 phút. Màu tím trong lớp *cloroform* không được đậm hơn màu thu được bằng cách dùng hỗn hợp 2ml *dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu Zn* (TT) và 8 ml *nước* thay cho dung dịch thử. Tiến hành một mẫu trắng kiểm tra, dùng 10 ml *nước* thay cho 10 ml dung dịch thử. Thử nghiệm không có giá trị nếu lớp *cloroform* thu được trong mẫu trắng có màu xanh lục.

Cẩn nung

Lấy 5 g đồ đựng đã cắt nhỏ cho vào một chén nung thích hợp đã cân bì. Nung ở $800\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ tới khối lượng không đổi. Để chén nung cho nguội trong bình hút ẩm sau mỗi lần nung, lượng cặn không được quá 0,1 %.

Thử nghiệm trên dịch chiết**Thử nghiệm hóa lý**

Những thử nghiệm sau đây thực hiện trên dịch chiết từ đồ đựng là chất dẻo, lượng chất dẻo tính theo diện tích bề mặt (cả 2 mặt) và chiết ở nhiệt độ qui định. Mẫu chất dẻo đồng nhất về chất liệu được cắt thành những miếng dài khoảng 5 cm và rộng khoảng 0,3 cm. Chuyển mẫu đã chia nhỏ vào một bình thủy tinh hình trụ dung tích 250 ml có nút mài, thêm khoảng 150 ml nước. Lắc khoảng 30 giây, gạn bỏ nước và rửa lại một lần nữa. Cho vào bình chiết thích hợp một lượng mẫu đã chuẩn bị có diện tích bề mặt khoảng 1200 cm² nếu bề dày của mẫu là 0,5 mm hoặc mỏng hơn, hoặc 600 cm² nếu bề dày lớn hơn 0,5 mm. Thêm 200 ml nước và chiết nóng trong nồi cách thủy ở 70 °C trong 24 giờ hoặc trong nồi hấp ở 120 °C trong 30 phút. Làm nguội nhưng không dưới 20 °C. Lấy 20,0 ml dịch chiết vào một bình thích hợp để dùng cho phép thử dung lượng đệm. Gạn ngay dịch chiết còn lại vào một bình sạch và đậy kín. Dùng nước để làm mẫu trắng trong những phép thử sau:

Độ trong và màu sắc: Dịch chiết phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3).

Độ hấp thụ ánh sáng: Lọc dịch chiết nếu cần và dịch lọc có độ hấp thụ ánh sáng không quá 0,08 ở 220 nm đến 240 nm và không quá 0,05 ở 240 nm đến 360 nm (Phụ lục 4.1). Dùng nước để làm mẫu trắng.

pH: Cứ mỗi 20 ml dịch chiết và mẫu trắng cho thêm 1 ml dung dịch kali clorid 0,1 % (TT), xác định pH của dung dịch (Phụ lục 6.2). Hiệu số pH của hai dung dịch không được lớn hơn 1,5.

Chất không bay hơi: Cho 50,0 ml dịch chiết vào một chén nung thích hợp đã cân bì và được làm sạch bằng acid. Bốc hơi trên cách thủy cho tới khô và sấy cần ở 105 °C trong 1 giờ. Song song làm mẫu trắng. Hiệu số giữa cần của dịch chiết và mẫu trắng không được vượt quá 15 mg.

Ghi chú: Nếu là cần dầu thì kiểm tra lại quá trình bay hơi, giai đoạn làm khô, và giảm nhiệt nếu dầu có xu hướng bám vào thành của chén nung.

Cần nung (Không cần phải làm thử nghiệm này nếu kết quả thử nghiệm cần không bay hơi không vượt quá 5 mg): Tiến hành với chất không bay hơi thu được từ mẫu thử và mẫu trắng, nhưng cho thêm cùng một lượng acid sulfuric (TT) vào mỗi chén nung. Hiệu số giữa cần nung của mẫu thử và mẫu trắng không vượt quá 5 mg.

Kim loại nặng

Dịch chiết có thể lọc nếu cần, lấy 20,0 ml cho vào 1 trong 2 ống Nessler, điều chỉnh pH tới khoảng giữa 3,0 và 4,0 với dung dịch acid acetic 1 M (TT) hay dung dịch amoniac 5 M (TT), pha loãng với nước để thành 35 ml và trộn đều.

Cho vào ống Nessler kia 2,0 ml dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT) và 20 ml nước. Điều chỉnh pH vào khoảng giữa 3,0 và 4,0 với dung dịch acid acetic 1 M (TT) hay dung dịch amoniac 5 M (TT). Pha loãng với nước để thành 35 ml và trộn đều.

Cho vào mỗi ống 10 ml dung dịch dihydrosulfid (TT) vừa mới pha, thêm nước thành 50 ml và trộn đều. Trong 10 phút, nếu dịch chiết có màu nâu thì không được đậm hơn màu trong ống chuẩn.

Dung lượng đệm: Lấy 20 ml dịch chiết đem chuẩn độ với dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT) hay dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT) tới pH 7,0 xác định bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song chuẩn độ với 20 ml mẫu trắng. Nếu mẫu thử và mẫu trắng dùng cùng dung dịch chuẩn độ thì hiệu của hai thể tích đã dùng ở trên không vượt quá 10,0 ml, nếu dùng hai dung dịch chuẩn độ khác loại cho mẫu thử hay mẫu trắng thì tổng số thể tích không lớn hơn 10,0 ml.

Những chất bị oxy hóa: Cho 20,0 ml dịch chiết vào một bình thủy tinh nút mài, thêm 20,0 ml dung dịch kali permanganat 0,002 M và 1 ml dung dịch acid sulfuric 10 % (khối lượng trên khối lượng), đun sôi 3 phút. Để nguội, thêm 0,1 g kali iodid (TT), lắc trộn đều và để yên 10 phút trong tối. Chuẩn độ bằng dung dịch natri thiosulfat 0,01 M (TT). Dùng 0,25 ml dung dịch hồ tinh bột (TT) cho vào khoảng cuối chuẩn độ làm chỉ thị màu. Song song làm mẫu trắng, hiệu số giữa hai lần định lượng không khác nhau quá 1,0 ml.

Thử nghiệm sinh học

Những thử nghiệm sau đây được xây dựng để đánh giá đáp ứng sinh học của động vật đối với những vật liệu là chất dẻo hay polymer khác khi tiêm các chất chiết từ mẫu thử nghiệm.

Lượng mẫu thử được lấy theo diện tích bề mặt đem chiết. Khi diện tích bề mặt không thể xác định được thì dùng 0,2 g mẫu thử cho mỗi ml dịch chiết. Cần thận trọng khi chuẩn bị các mẫu thử để tiêm, tránh nhiễm khuẩn và các chất lạ.

Thử nghiệm áp dụng cho các loại chất dẻo và các polymer đúng với điều kiện sử dụng. Khi các đồ đựng phải rửa hoặc tiệt khuẩn trước khi dùng thì thử nghiệm cũng phải tiến hành trên mẫu đồ đựng đã được xử lý với cùng qui trình rửa và tiệt khuẩn.

Mẫu thử là dịch chiết từ mẫu đồ đựng cần thử. Mẫu trắng là dung môi dùng để chiết được xử lý trong cùng điều kiện và qui trình như mẫu thử. Mẫu đối chiếu âm tính là mẫu không cho phản ứng trong cùng điều kiện thử.

a) Thử nghiệm toàn thân

Thử nghiệm dùng để đánh giá đáp ứng toàn thân của chuột nhắt sau khi tiêm dịch chiết từ mẫu cần thử.

Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng khỏe mạnh, cùng nguồn gốc, cân nặng 18 g đến 22 g, chưa dùng

vào thí nghiệm nào trước đó. Chuột được cho ăn và uống nước bình thường.

Dụng cụ

Nồi hấp có khả năng duy trì nhiệt độ ở $121^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, có thêm hệ thống nước làm lạnh để làm nguội bình đựng mẫu thử đến khoảng 20°C ngay sau khi hấp.

Tủ sấy có khả năng duy trì nhiệt độ ở $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ hoặc $70^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Dùng ống nghiệm hoặc ống nuôi cấy có nắp xoáy là thủy tinh trung tính (thủy tinh loại I) để chiết mẫu.

Chuẩn bị dụng cụ

Các dụng cụ thủy tinh cần tráng bằng hỗn hợp acid cromic hoặc acid nitric nóng, súc rửa kỹ với nước, tráng lại bằng nước cất. Rửa các dụng cụ để cất lần lượt với acetone và dicloromethan trước khi dùng để cất mẫu. Tất cả các dụng cụ khác phải được rửa với chất tẩy rửa thích hợp rồi tráng kỹ bằng nước cất. Làm khô và tiệt khuẩn các dụng cụ bằng phương pháp thích hợp.

Dung môi chiết: Việc lựa chọn dung môi chiết, trong số các dung môi chiết dưới đây, cần đại diện cho thành phần dung môi có trong chế phẩm sẽ tiếp xúc trực tiếp với đồ đựng chất dẻo đem thử nghiệm.

Dung dịch tiêm natri clorid 0,9 % (vô khuẩn và không có chất gây sốt).

Ethanol 5 % trong dung dịch tiêm natri clorid 0,9 %.

Polyethylen glycol 400.

Dầu thực vật: dùng dầu vừng, dầu lạc hoặc dầu hạt bông mới tinh chế và phải đạt thêm các yêu cầu sau: Dùng 3 thử nghiệm theo qui định phép thử tiêm trong da. Tiêm trong da 0,2 ml vào mỗi điểm, tiêm 10 điểm trên mỗi thử. Quan sát chỗ tiêm 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ sau khi tiêm. Không được có điểm nào có phản ứng dưới dạng vết đỏ hay phỏng có đường kính lớn hơn 0,5 cm.

Chuẩn bị mẫu thử

Chọn và cắt mẫu thử thành những mảnh nhỏ theo kích thước hướng dẫn trong *Bảng 17.3.2.1*. Loại bỏ những vật lạ như xơ vải và những mảnh vụn quá nhỏ bằng cách cho mẫu đã cắt vào ống đựng thủy tinh loại I, dung tích 100 ml, có nút mài, thêm 70 ml nước để pha thuốc tiêm. Lắc trong khoảng 30 giây, gạn bỏ hết nước, làm lại một lần nữa. Với phần mẫu dùng chiết bằng dung môi là dầu thực vật, cần sấy khô mẫu thử ở nhiệt độ không quá 50°C .

Ghi chú: Không lau mẫu bằng khăn khô/ấm hoặc rửa bằng dung môi hữu cơ.

Chuẩn bị dịch chiết: Cho lượng mẫu thử đã xử lý đúng yêu cầu vào dụng cụ chiết, thêm 20 ml dung môi chiết. Chuẩn bị như vậy với từng loại dung môi chiết theo yêu cầu phép thử. Song song chuẩn bị một mẫu

trắng dùng 20 ml cho mỗi loại dung môi và xử lý trong cùng điều kiện. Chiết bằng cách hấp trong nồi hấp ở 120°C trong 60 phút hoặc trong tủ ẩm ở 70°C trong 24 giờ hoặc ở 50°C trong 72 giờ, tùy thuộc vào loại chất dẻo đem thử.

Làm nguội ngay đến nhiệt độ phòng nhưng không dưới 20°C , lắc mạnh trong vài phút và gạn ngay mỗi dịch chiết vào một bình khô, vô khuẩn. Bảo quản các dịch chiết ở nhiệt độ từ 20°C đến 30°C nhưng không dùng để thử nếu để quá 24 giờ.

Ghi chú: Điều kiện chiết không được làm thay đổi trạng thái vật lý của mẫu thử, như làm chảy hoặc làm nóng chảy mẫu thử, dẫn tới làm giảm diện tích bề mặt mẫu thử. Có thể cho phép các mảnh dính nhẹ vào nhau. Nên cho từng mảnh nhỏ đã rửa sạch vào dung môi chiết. Nếu dùng các ống nuôi cấy để chiết với dầu thực vật trong nồi hấp thì phải dán kín mép quanh nút với băng dính tốt để ngăn hơi nước không vào trong dịch chiết.

Tiến hành

Lắc mạnh dịch chiết trước mỗi liều tiêm để đảm bảo chất chiết được phân bố đều. Chú ý không lấy các tiểu phần nhìn thấy được để tiêm tĩnh mạch.

Dùng 5 chuột cho một nhóm, mỗi nhóm thử với một dịch chiết của mẫu thử hoặc mẫu trắng. Liều tiêm và đường tiêm theo hướng dẫn ở *Bảng 17.3.2.2*. Riêng dịch chiết với dung môi polyethylen glycol và mẫu trắng tương ứng cần pha loãng với 4,1 thể tích dung dịch tiêm natri clorid 0,9 % để được dung dịch có nồng độ khoảng 200 mg polyethylen glycol trong 1 ml.

Quan sát tất cả các chuột ngay sau khi tiêm, sau 4 giờ và ít nhất vào các thời điểm 24 giờ, 28 giờ và 72 giờ sau khi tiêm. Nếu trong thời gian theo dõi không có chuột nào của nhóm tiêm mẫu thử có phản ứng sinh học lớn hơn đáng kể so với nhóm tiêm mẫu trắng thì mẫu thử đạt yêu cầu. Nếu có 2 chuột hoặc nhiều hơn bị chết hoặc có 2 chuột hoặc nhiều hơn có biểu hiện bất thường như co giật, suy nhược hoặc có 3 chuột trở lên bị giảm cân ($> 2\text{ g}$) thì mẫu thử không đạt yêu cầu.

Nếu có một chuột bị chết hoặc có dấu hiệu phản ứng sinh học thì thử lại trên 10 chuột khác. Với lần thử lại, mẫu thử đạt yêu cầu nếu tất cả 10 chuột đều sống và không có biểu hiện sinh học khác nhau đáng kể so với nhóm chứng.

Bảng 17.3.2.1

Dạng chất dẻo	Bề dày	Lượng mẫu cho mỗi 20 ml dung môi chiết	Chia nhỏ thành
Màng mỏng hay tờ	< 0,5 mm	Tương đương diện tích bề mặt 120 cm ² (cả hai mặt)	Những dải khoảng 5 cm × 0,3 cm
	Từ 0,5 mm đến 1 mm	Tương đương diện tích bề mặt 60 cm ² (cả hai mặt)	
Ống	< 0,5 mm (thành ống)	Chiều dài (cm) = 120 (cm ²) : [Chu vi đường kính trong + chu vi đường kính ngoài của ống] (cm)	Những phần khoảng 5 cm × 0,3 cm
	Từ 0,5 mm đến 1 mm (thành ống)	Chiều dài (cm) = 60 (cm ²) : [Chu vi đường kính trong + chu vi đường kính ngoài của ống] (cm)	
Phiên mỏng, ống hoặc đã tạo khuôn	> 1 mm	Tương đương với tổng diện tích bề mặt 60 cm ² (toàn bộ bề mặt tiếp xúc)	Những miếng khoảng 5 cm × 0,3 cm

Bảng 17.3.2.2

Dịch chiết hay mẫu trắng	Liều cho 1 kg	Đường tiêm	Tốc độ tiêm (μl cho 1 giây)
Dung dịch tiêm natri clorid 0,9 %	50 ml	Tĩnh mạch	100
Dung dịch 5 % (tt/tt) của ethanol trong dung dịch tiêm natri clorid 0,9 %	50 ml	Tĩnh mạch	100
Polyethylen glycol 400	10 g	Trong màng bụng	
Dầu thực vật	50 ml	Trong màng bụng	

b) Thử nghiệm tiêm trong da

Thử nghiệm này được xây dựng để đánh giá phản ứng tại chỗ của thỏ với dịch chiết mẫu thử sau khi tiêm vào trong da.

Động vật thí nghiệm: Chọn thỏ trắng, da mỏng, có thể cắt lông thật ngắn và da không bị tổn thương hoặc bị kích ứng do cọ xát. Trong thời gian theo dõi, tránh tiếp xúc vào những chỗ tiêm trừ khi cần phân biệt giữa nốt phù nề với vết dầu đọng.

Ghi chú: Những thỏ trước đó đã dùng cho các phép thử không liên quan như thử chất gây sốt hoặc thử đã nghỉ một thời gian sau lần thử trước, có thể dùng vào phép thử này nếu da sạch và không bị tổn thương.

Tiến hành: Trông ngày thí nghiệm, cắt lông trên phần lưng thỏ, về cả hai bên sống lưng, một khoảng đủ rộng để thử. Tránh gây kích ứng và làm tổn thương da. Dùng máy hút để loại hết lông rơi ra, khi cần có thể lau nhẹ da bằng ethanol loãng và để khô trước khi tiêm. Mỗi loại dịch chiết cần thử trên 2 thỏ, một bên tiêm dịch chiết và một bên tiêm mẫu trắng theo hướng dẫn trong Bảng 17.3.2.3. Để tránh lãng phí, trên cùng một thỏ có thể tiêm một vài loại dịch chiết hoặc dịch chiết của vài mẫu khác nếu kết quả không ảnh hưởng lẫn nhau. Lắc mạnh mỗi dịch chiết trước khi lấy để tiêm. Mẫu dịch chiết với polyethylen glycol 400 và mẫu trắng tương ứng, cần pha loãng với dung dịch tiêm natri clorid 0,9 % để có nồng độ polyethylen glycol khoảng 120 mg trong 1 ml.

Bảng 17.3.2.3

Dịch chiết hay mẫu trắng	Số vị trí (cho mỗi thỏ)	Liều cho mỗi vị trí (μl)
Mẫu thử	5	200
Mẫu trắng	5	200

Quan sát các chỗ tiêm để phát hiện các phản ứng của mô như ban đỏ, phù nề hoặc hoại tử. Có thể lau nhẹ bằng ethanol loãng để dễ quan sát và đánh giá kết quả. Quan sát tất cả các thỏ thí nghiệm tại các thời điểm 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ sau khi tiêm. Chấm điểm tất cả các chỗ tiêm của mẫu trắng và mẫu thử theo thang điểm qui định trong Bảng 17.3.2.4.

Bảng 17.3.2.4

Ban đồ và tạo thành vảy	Điểm	Tạo thành phù nề *	Điểm
Không có ban đồ	0	Không có phù nề	0
Ban đồ rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1	Phù nề rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
Ban đồ nhận thấy rõ	2	Phù nề nhẹ (viền phù nề nổi rõ)	2
Ban đồ vừa phải tới đậm	3	Phù nề vừa phải (phù nề cao khoảng 1 mm)	3
Ban đồ đậm (sắc đỏ) tới tạo thành vảy nhẹ	4	Phù nề nặng (phù nề cao trên 1 mm và lan rộng hơn khoảng tiếp xúc)	4

*Không kể những vết nề (cơ học) không phải viêm.

Trong thời gian theo dõi, nếu cần có thể cắt lại lông thỏ để dễ quan sát. Tính điểm ban đồ và phù nề trung bình cho mẫu trắng và mẫu thử ở mỗi lần chấm điểm (24 giờ, 28 giờ và 72 giờ) cho mỗi thỏ. Sau 72 giờ, cộng tất cả các điểm ban đồ và phù nề cho riêng mẫu thử và mẫu trắng. Chia tổng số điểm của từng mẫu cho 12 (2 thỏ $\times$ 3 lần ghi điểm $\times$ 2 lần ghi loại điểm) để xác định điểm trung bình chung với mỗi mẫu thử và mẫu trắng tương ứng. Phép thử đạt yêu cầu nếu hiệu số giữa điểm trung bình của mẫu thử và mẫu trắng tương ứng nhỏ hơn hoặc bằng 1. Nếu ở bất kỳ lần ghi điểm nào đó, điểm phản ứng trung bình của mẫu thử nghi ngờ cao hơn mẫu trắng, làm lại thêm trên 3 thỏ khác. Phép thử đạt yêu cầu nếu điểm trung bình giữa mẫu thử và mẫu trắng khác nhau nhỏ hơn hoặc bằng 1,0.

c) Thử nghiệm chất gây sốt

Thử nghiệm này được qui định cho các đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho thuốc tiêm truyền. Dùng dung môi chiết là dung dịch tiêm natri clorid 0,9 % không có chất gây sốt và tiến hành qui trình chiết như hướng dẫn trong phép thử tiêm toàn thân. Các dụng cụ chiết phải đảm bảo không có chất gây sốt.

Tiến hành theo thử nghiệm chất gây sốt (Phụ lục 13.4), tiêm 10 ml dịch chiết cho 1 kg thỏ.

17.3.3 ĐỒ ĐỰNG BẰNG CHẤT ĐEO DÙNG CHO CHẾ PHẨM NHỎ MẮT

Đồ đựng bằng chất dẻo cho các chế phẩm nhỏ mắt có thể được chế tạo từ các polymer có khối lượng phân tử đồng nhất trong một khoảng nhất định. Có thể dùng polypropylen hoặc đồng polymer của propylen với không quá 25 % ethylen hoặc hỗn hợp polypropylen và không quá 25 % polyethylen và thường có thêm các chất hóa dẻo, ổn định, chống oxy hóa, tạo màu, làm trơn.

Để lựa chọn đồ đựng bằng chất dẻo phù hợp với chế phẩm nhỏ mắt cần phải tiến hành các thử nghiệm về thành phần của chất dẻo, qui trình xử lý đồ đựng, môi trường tiếp xúc, khả năng hấp thụ và tính thấm của các chất thêm vào, điều kiện bảo quản... có thể ảnh hưởng đến chế phẩm.

Đồ đựng bằng chất dẻo cho chế phẩm thuốc nhỏ mắt phải đáp ứng những thử nghiệm sau:

Thử độ kín, độ gấp uốn, độ trong của dịch chiết, cần không bay hơi

Phải đáp ứng những thử nghiệm qui định cho đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm không phải thuốc tiêm (Phụ lục 17.3.1).

Thử nghiệm tiêm toàn thân, tiêm trong da

Phải đáp ứng những thử nghiệm qui định cho đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm thuốc tiêm (Phụ lục 17.3.2).

Thử độ kích ứng mắt

Thử nghiệm này để đánh giá đáp ứng khi nhỏ dịch chiết của mẫu thử vào mắt thỏ.

Dung môi chiết:

(a) Dung dịch tiêm natri clorid 0,9 %.

(b) Dầu thực vật.

Chuẩn bị dịch chiết: Tiến hành giống như chuẩn bị dịch chiết để thử nghiệm tiêm toàn thân.

Động vật thí nghiệm:

Chọn những thỏ trắng khỏe mạnh, trước đó chưa dùng để thử kích ứng mắt. Nhà chăn nuôi phải không có mùn cưa, vỏ bào hay những vật liệu khác có thể làm kích ứng mắt thỏ. Kiểm tra cả hai mắt thỏ trước khi thử và chỉ dùng những thỏ mà mắt không bị kích ứng để thí nghiệm.

Thử sự thích ứng của mắt thỏ: Dùng một thỏ, nhỏ vào một mắt 100 μ l mẫu trắng đã chuẩn bị trong thử nghiệm tiêm toàn thân và nhỏ vào mắt kia 100 μ l nước cất vô khuẩn để tiêm. Mắt thỏ được coi là thích ứng nếu không nhận thấy sự khác nhau có ý nghĩa giữa hai mắt.

Qui trình thử: Dùng 3 thỏ trắng cho mỗi dịch chiết đem thử. Nhốt thỏ ở nơi chắc chắn nhưng cần nhẹ nhàng và yên tĩnh. Kéo nhẹ và hạ mí mắt dưới xa con ngươi để làm thành một hốc lõm và nhỏ khoảng 100 μ l nước cất vô khuẩn để tiêm, giữ mí mắt khoảng 30 giây. Làm tương tự để nhỏ vào mắt kia 100 μ l dịch chiết mẫu thử đã chuẩn bị ở thử nghiệm tiêm toàn thân. Quan sát mắt thỏ vào các thời điểm 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ sau khi nhỏ. Phép thử đạt yêu cầu nếu dịch chiết của mẫu thử chứng tỏ không có kích ứng đáng kể trong quá trình theo dõi so với mẫu trắng và mắt thỏ thích ứng với thử nghiệm. Nếu có hiện tượng kích ứng với mắt nhỏ nước cất vô khuẩn để tiêm [hoặc mắt thỏ không thích ứng với thử nghiệm] thì làm lại thí nghiệm với 3 thỏ khác. Trong lần thử lại, tất cả các thỏ phải đạt yêu cầu thử nghiệm.

17.4 DỤNG CỤ TIÊM TRUYỀN ĐÃ TIẾT KHUẨN (Bộ dây truyền dịch)

Dụng cụ tiêm truyền (Bộ dây truyền dịch) dùng để dẫn các chế phẩm như thuốc tiêm thể tích lớn, máu và các chế phẩm từ máu qua đường tĩnh mạch hoặc đường khác thích hợp trong điều trị và dinh dưỡng.

Cấu tạo

Bộ dây truyền dịch có phần chính là một ống dẫn hình trụ bằng chất dẻo gắn chặt với các bộ phận khác gồm: kim chọc nút chai, bầu đếm giọt, màng lọc máu, khóa (bộ phận điều chỉnh lưu lượng chảy), kim tiêm, màng lọc không khí. Y cụ này được sản xuất với các kích cỡ khác nhau theo yêu cầu của trị liệu.

Vật liệu và thiết kế sản xuất

Vật liệu dùng để chế tạo ra bộ dây truyền dịch thường gồm nhựa dẻo như polyvinyl clorid (PVC), ethylenvinyl acetat (EVA) và kim loại không gỉ. Những vật liệu này phải là loại dùng cho y tế. Vật liệu dùng làm ống dẫn, bầu đếm giọt phải là loại trong suốt. Việc chọn vật liệu cho sản phẩm phải không ảnh hưởng tới chất lượng của dịch được dẫn truyền, đặc biệt không tác động đến các thành phần của máu, cũng như đảm bảo an toàn trong khi dùng.

Bộ dây truyền dịch phải vô khuẩn và không có chất gây sốt; chỉ dùng một lần, không được tiết trùng để dùng lại.

Tiêu chuẩn kỹ thuật chung

Bộ dây truyền dịch đã tiết khuẩn, đóng gói đúng quy định phải đáp ứng các phép thử sau:

Chuẩn bị dung dịch thử nghiệm (dung dịch T): Thiết lập một hệ thống quay vòng khép kín gồm 3 bộ dây truyền dịch (được nối liền với nhau) và một bình thủy tinh borosilicat dung tích 300 ml. Lắp một bộ phận cấp và điều chỉnh nhiệt vào bình. Rót 250 ml nước để pha thuốc tiêm vào bình và điều nhiệt ở $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Cho nước lưu thông trong hệ thống qua các bộ dây theo chiều sẽ được dùng để truyền dịch làm thành một vòng khép kín (nước từ bình - qua dây - trở lại bình) với tốc độ 1000 ml/giờ trong 2 giờ. Trong quá trình chiết rửa có thể dùng một bơm kiểu nhu động thích hợp để đẩy nước lưu thông dễ dàng, nhưng không ảnh hưởng tới kết quả các thử nghiệm sau đó. Thu toàn bộ dịch và để nguội (dán nhãn dung dịch T).

Độ trong và màu sắc dung dịch

Dung dịch T phải trong suốt (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Độ hấp thụ ánh sáng

Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch T trong khoảng từ 230 nm đến 360 nm (Phụ lục 4.1).

Độ hấp thụ đọc được là không quá 0,3 tại bất kỳ bước sóng nào trong khoảng từ 230 nm đến 250 nm, và không quá 0,15 tại bất kỳ bước sóng nào trong khoảng từ 251 nm đến 360 nm.

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 25 ml dung dịch T, thêm 0,15 ml dung dịch chứa 0,1 % *xanh bromothymol* (TT), 0,02 % *đỏ methyl* (TT) và 0,2 % *phenolphthalein* (TT) trong *ethanol* 96 % (TT). Màu của dung dịch phải chuyển sang xanh khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd* 0,01 M (CĐ).

Lấy 25 ml dung dịch T, thêm 0,2 ml *dung dịch da cam methyl* (TT). Dung dịch phải bắt đầu chuyển màu khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric* 0,01 M (CĐ).

Cẩn không bay hơi

Bốc hơi 50 ml dung dịch T đến khô trên cách thủy và sấy đến khối lượng không đổi ở 100°C đến 105°C . Song song làm mẫu trắng với 50 ml *nước để pha thuốc tiêm*. Lượng cẩn thu được của mẫu thử không lớn hơn quá 1,5 mg so với lượng cẩn thu được của mẫu trắng.

Chất khử

Phép thử này được tiến hành trong vòng 4 giờ từ khi chuẩn bị dung dịch T. Lấy 20 ml dung dịch T, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric* 1 M (TT), 20 ml *dung dịch kali permanganat* 0,002 M (CĐ). Đun sôi 3 phút, sau đó làm nguội nhanh. Thêm 1 g *kali iodid* (TT), chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat* 0,01 M (CĐ), dùng 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột* (TT) làm chỉ thị. Song song làm mẫu trắng với 20 ml *nước để pha thuốc tiêm*. Lượng *dung dịch natri thiosulfat* 0,01 M (CĐ) dùng cho mẫu thử không lớn hơn quá 2,0 ml so với lượng dùng cho mẫu trắng.

Tiêu phân lã

Đóng đầy *dung dịch natri lauryl sulfat* 0,01 % (kl/tt) (TT) đã được lọc trước qua phễu thủy tinh xốp với đường kính lỗ lọc khoảng 10 μm đến 16 μm và làm nóng đến 37°C vào bộ dây truyền dịch qua đường vào thông thường. Thu dung dịch từ đường ra của bộ dây và quan sát. Dung dịch phải trong suốt và thực tế không có các tiểu phân hoặc sợi khi quan sát bằng mắt thường (coi các tiểu phân hoặc sợi với đường kính bằng hoặc lớn hơn 50 μm là có thể quan sát được bằng mắt thường).

Tốc độ dòng chảy

Đặt đầu vào của một bộ dây truyền dịch ở độ cao 1 m. Cho 50 ml một dung dịch có độ nhớt bằng 3 mPa.s (dung dịch polyethylen glycol 4000 3,3 % (kl/tt) trong nước ở 20°C là thích hợp) chảy qua bộ dây với khóa để ở trạng thái mở hoàn toàn. Thời gian chảy hết lượng dung dịch thử nghiệm phải không quá 90 giây.

Đồ bền áp lực

Bịt kín một đầu của bộ dây truyền dịch, kể cả ống thông khí (nếu có). Mở các khóa. Gắn đầu kia của bộ

dây với đầu ống chứa khí nén, ống có gắn sẵn thiết bị điều áp. Nhúng chìm một bộ dây vào một thùng nước ở 20 °C đến 23 °C. Nén khí vào dây với áp suất 100 kPa trong 1 phút. Không được có bọt khí thoát ra từ bộ dây.

Độ trong suốt của dây truyền dịch

Pha hỗn dịch chuẩn: Trộn đều 25 ml dung dịch hydrazin sulfat 1 % trong nước (đã pha sau 4 giờ đến 6 giờ) với một dung dịch có chứa 2,5 g *hexamin* (TT) trong 25,0 ml nước và để yên trong 24 giờ. Hỗn dịch này phải được bảo quản trong bình thủy tinh có bề mặt trong thật nhẵn, có thể ổn định trong vòng 2 tháng. Trước khi dùng phải lắc đều sau đó lấy 15 ml hỗn dịch cho vào bình định mức, pha loãng với nước cất tới vừa đủ 1000 ml, thu được hỗn dịch chuẩn.

Pha loãng hỗn dịch chuẩn 8 lần để thử các bộ dây truyền dịch có đường kính ngoài của ống dẫn nhỏ hơn 5 mm; pha loãng hỗn dịch chuẩn 16 lần để thử các bộ dây truyền dịch có đường kính ngoài của ống dẫn bằng hoặc lớn hơn 5 mm.

Cho hỗn dịch chuẩn đã pha loãng phù hợp chạy qua bộ dây cần thử. Độ đục và các bọt khí của hỗn dịch chuẩn đã pha loãng khi chảy qua bộ dây phải được nhận biết rõ bằng mắt thường khi so sánh với bộ dây khác cùng lô đã đóng đầy nước cất.

Thử vô khuẩn

Tiến hành phép Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7) với các chỉ dẫn thêm sau:

Nếu bộ dây truyền dịch quy định chỉ có mặt trong là vô khuẩn: Cho 50 ml dung môi A (được chuẩn bị theo chỉ dẫn ở Phụ lục Thử vô khuẩn 13.7), chảy qua bộ dây truyền dịch và thu lấy toàn bộ lượng dung môi này để thử. Tiến hành thử theo phương pháp màng lọc. Nếu bộ dây truyền dịch quy định cả mặt trong và mặt ngoài đều vô khuẩn: Mở đồ bao gói bằng các dụng cụ tiệt khuẩn. Nếu dùng phương pháp màng lọc để thử: Đặt bộ dây vào một đồ đựng vô khuẩn thích hợp có chứa sẵn một lượng dung môi A đủ để làm ngập bộ dây và ngâm rửa một bộ dây trong 10 phút. Nếu dùng phương pháp cấy trực tiếp để thử: Đặt cả bộ dây vào trong một đồ đựng vô khuẩn thích hợp có chứa sẵn một lượng môi trường đủ để ngâm chìm toàn bộ dây đem thử. Bộ dây truyền dịch phải vô khuẩn.

Chất gây sốt

Nối kết liên tiếp 5 bộ dây truyền dịch với nhau. Cho chảy qua hệ thống này 250 ml dung dịch natri clorid 0,9 % vô khuẩn, không có chất gây sốt với tốc độ chảy không quá 10 ml/phút. Hứng dịch rửa vào một đồ đựng không có chất gây sốt, dung dịch thu được để tiến hành thử chất gây sốt với liều 10 ml/kg thể trọng thỏ (Phụ lục.13.4).

Bộ dây truyền dịch không được chứa chất gây sốt.

Ethylen oxyd

Nếu trên nhãn có ghi là bộ dây truyền dịch được tiệt khuẩn bằng ethylen oxyd thì dư lượng chất này không vượt quá 0,001 % (kl/kl).

Tiến hành theo phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Lấy bộ dây truyền dịch ra khỏi đồ bao gói và cân. Cắt dây thành từng đoạn dài không quá 1 cm và bỏ vào một lọ thủy tinh dung tích 250 ml đến 500 ml đã có sẵn 150 ml *dimethylacetamid* (TT). Nút lọ lại bằng một nút thích hợp và cột nút thật chắc chắn. Làm nóng lọ ở nhiệt độ 69 °C đến 71 °C trong 16 giờ. Dùng khí nóng thu được từ lọ để tiêm vào cột.

Dung dịch chuẩn gốc: Tiến hành trong tủ hút như sau: Chuyển 50 ml *dimethylacetamid* (TT) vào một lọ thủy tinh 50 ml, nút lọ lại và cột nút chắc chắn. Cân khối lượng lọ (chính xác đến 0,1 mg). Làm đầy một bơm tiêm (bằng polyethylen hoặc polypropylen) có dung tích 50 ml với khí *ethylen oxyd* (TT). Giữ cho khí tiếp xúc với mặt trong của bơm tiêm khoảng 3 phút rồi đẩy hết khí ra khỏi bơm tiêm. Làm đầy lại bơm tiêm với 50 ml khí *ethylen oxyd* (TT) khác. Lắp một kim tiêm (loại dùng tiêm dưới da) vào bơm tiêm, đẩy bớt khí ra khỏi bơm tiêm đến khi thể tích khí trong bơm tiêm còn 25 ml. Tiêm từ từ lượng khí trong bơm tiêm này vào lọ đã chuẩn bị trên. Lắc nhẹ nhàng, tránh không cho kim tiêm tiếp xúc với *dimethylacetamid* trong lọ. Cân lại khối lượng lọ. Sự tăng khối lượng lọ chính là lượng khí ethylen oxyd đã được hòa tan. Từ sự tăng khối lượng này (khoảng 45 mg đến 60 mg), tính toán nồng độ chính xác của dung dịch khí ethylen oxyd trong *dimethylacetamid* (khoảng 1 g/lít).

Pha các dung dịch chuẩn từ 1 đến 7: Chuẩn bị 7 lọ (cùng loại như đã dùng để chuẩn bị dung dịch thử), đánh số từ 1 đến 7, trong mỗi lọ đã có sẵn 150 ml *dimethylacetamid* (TT). Lần lượt cho vào các lọ, theo thứ tự từ 1 đến 7, các thể tích chính xác dung dịch chuẩn gốc sau: 0 ml; 0,05 ml; 0,10 ml; 0,20 ml; 0,50 ml; 1,00 ml và 2,00 ml (tương ứng với khoảng 0 µg; 50 µg; 100 µg; 200 µg; 500 µg; 1000 µg và 2000 µg ethylen oxyd). Đậy nút các lọ và cột nút vào cổ lọ cho thật chắc chắn. Làm nóng các lọ ở nhiệt độ 69 °C đến 71 °C trong 16 giờ. Dùng khí nóng thu được từ các lọ để tiêm vào cột.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (1,5 m × 6,4 mm) nhồi *diatomit silan hóa được tẩm 30 % (kl/kl) polyethylen glycol 1500*.

Khí mang: *Heli* với tốc độ dòng 20 ml/min.

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ vận hành: Cột ở 40 °C; buồng tiêm ở 100 °C; detector ở 150 °C.

Cách tiến hành:

Xây dựng đường chuẩn: Lần lượt tiêm riêng biệt 1 ml khí nóng thu được từ các lọ đựng dung dịch chuẩn từ 1 đến 7 vào cột sắc ký và xây dựng đường chuẩn từ các chiều cao của các pic đáp ứng thu được và lượng ethylen oxyd có trong mỗi lọ tương ứng.

Tiêm 1 ml khí nóng thu được từ lọ đựng dung dịch thử. Dựa vào chiều cao của pic đáp ứng thu được trong sắc ký đồ của dung dịch thử và căn cứ vào đường chuẩn đã được xây dựng ở trên, tính ra lượng ethylen oxyd có trong mẫu thử.

Cần kiểm tra để đảm bảo rằng không có sự ảnh hưởng của các pic khác lên pic của ethylen oxyd bằng một trong hai cách sau: 1) Tiến hành sắc ký một dung dịch được chuẩn bị như dung dịch thử quy định ở trên, nhưng thay một bộ dây truyền dịch cần thử bằng một bộ dây không được tiệt khuẩn; 2) Tiến hành quy trình sắc ký theo quy định ở trên, nhưng dùng cột thép không gỉ (3 m × 3,2 mm) nhồi *diatomit silan hóa được tẩm 20 % (kl/kl) triscyanoethoxypropyl*, duy trì ở nhiệt độ cột 60 °C.

Đóng gói, bảo quản

Mỗi bộ dây truyền dịch được đóng trong bao bì kín thích hợp, duy trì được trạng thái vô khuẩn. Dán nhãn đáp ứng quy cách và ghi rõ kỹ thuật tiệt khuẩn trong sản xuất.

Bảo quản nơi khô ráo, mát và tránh va chạm.

17.5 NÚT CAO SU DÙNG CHO CHAI ĐỰNG THUỐC TIÊM VÀ THUỐC TIÊM TRUYỀN

Nút cao su dùng cho chai, lọ đựng các chế phẩm thuốc tiêm nước, bột, hay bột đông khô, được làm từ các nguyên liệu thu được bằng cách lưu hóa các chất hữu cơ cao phân tử có tính đàn hồi, có nguồn gốc thiên nhiên hay tổng hợp, với các chất phụ gia thích hợp (chất lưu hóa, chất tăng tốc độ lưu hóa, chất ổn định, chất màu...).

Nút cao su được dùng cho nhiều chế phẩm thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền khác nhau, đòi hỏi nút có những tính chất khác nhau. Việc lựa chọn nút cao su cho một chế phẩm thuốc cần đảm bảo để trong quá trình tiếp xúc trực tiếp với thuốc, nút cao su không hấp thụ các thành phần của thuốc, cũng như không nhả tạp chất vào thuốc, với mức có thể làm biến đổi chất lượng thuốc hoặc gây độc hại. Nút cao su phải không cho các chất thấm qua vào thuốc làm ảnh hưởng đến chất lượng thuốc, có độ đàn hồi tốt, đảm bảo nút chặt khít miệng chai, lọ, cho phép kim tiêm xuyên qua mà không rơi ra các mảnh vụn, khi rút kim ra lỗ thủng phải tự bít kín ngay để không gây ô nhiễm thuốc, nút phải ổn định trong suốt thời gian bảo quản và sử dụng. Nút cao su phải không gây tương kỵ với thuốc chứa bên trong.

Nút cao su có thể được phân thành 2 loại:

- Loại I: Đáp ứng được các yêu cầu nghiêm ngặt nhất và được ưa dùng.
- Loại II: Là loại có các tính chất cơ học phù hợp cho các trường hợp sử dụng đặc biệt (ví dụ như loại dùng cho nhiều liều, chọc chai nhiều lần), do cấu tạo thành

phân hoá học mà nút loại II không thể đáp ứng được các yêu cầu nghiêm ngặt như loại I.

Tính chất

Nút cao su là loại nút đàn hồi, trong mờ hoặc đục mờ, màu phụ thuộc vào thành phần các chất có trong nút. Nút phải đồng nhất và không có các vật lạ ngẫu nhiên rơi vào thuốc như sợi, tiểu phân lạ hay mảnh vụn cao su. Nút cao su phải không tan trong tetrahydrofuran nhưng có thể trương nở.

Độ bền của nút khi đâm kim

Đối với phép thử độ bền của nút khi đâm kim, khả năng tự bít kín lỗ đâm kim, nút được xử lý như xử lý nút ở phần chuẩn bị dịch chiết, sau đó làm khô nút.

Đối với nút thiết kế đâm qua bằng kim tiêm dưới da, tiến hành thử như sau: Lấy 12 chai đã rửa sạch, sấy khô. Cho vào mỗi chai một thể tích nước bằng dung tích danh định bớt đi 4 ml. Đậy chai bằng nút cần kiểm tra. Đóng nắp nhôm bên ngoài và để yên trong 16 giờ. Dùng kim tiêm dưới da đã được bôi trơn có mũi kim nhọn vát một góc $12^\circ \pm 2^\circ$, đường kính ngoài 0,8 mm, dài 40 mm, gắn vào một bơm tiêm sạch. Đâm kim xuyên qua nút chai, bơm vào chai 1 ml nước và hút ra 1 ml không khí. Tiến hành 4 lần trên mỗi nút chai, mỗi lần đâm ở một vị trí khác nhau. Mỗi kim chỉ sử dụng cho một nút. Nếu kim bị cùn phải thay kim mới. Lọc nước ở trong chai qua màng có lỗ lọc khoảng 0,45 µm. Đếm các mảnh cao su có thể nhìn thấy bằng mắt thường đã rơi ra. Tổng số mảnh cao su đếm được ở 12 chai không được quá 5.

Độ bền của nút khi tiệt khuẩn

Cho nước vào chai sạch với thể tích bằng khoảng 2/3 dung tích, đậy bằng nút cần kiểm tra, đóng nắp nhôm bên ngoài. Sau khi hấp ở $121^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ trong 20 phút, nút không được biến dạng hay chảy dính.

Độ kín của nút

Cho nước theo đúng dung tích vào 5 chai. Đậy chai bằng nút cần thử. Đóng nắp nhôm bên ngoài. Hấp ở $121^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ trong 30 phút. Nhúng chìm các chai vào *dung dịch xanh methylen 0,1 % (TT)* trong 1 giờ ở áp suất 650 mmHg. Khi áp suất trở lại bình thường, dung dịch không được thấm vào bên trong chai.

Khả năng tự bít kín lỗ đâm kim

Phép thử này chỉ áp dụng với nút cao su dùng cho chế phẩm thuốc tiêm đóng nhiều liều.

Cho nước theo đúng thể tích danh định vào 10 chai. Đậy chai bằng nút cần thử. Đóng nắp nhôm bên ngoài. Dùng kim tiêm có đường kính ngoài 0,8 mm, dài 40 mm, đâm xuyên qua nút, tiến hành 10 lần trên mỗi nút chai, mỗi lần đâm ở một vị trí khác nhau. Mỗi nút dùng một kim tiêm mới. Xếp chai theo chiều thẳng đứng, chìm trong *dung dịch xanh methylen 0,1 % (TT)*. Giảm áp suất bên ngoài tới 27 kPa trong 10 phút.

Trả lại áp suất khí quyển nhưng vẫn để chai chìm trong đó 30 phút. Rửa sạch bên ngoài chai. Không có chai nào có vết dung dịch màu.

Giới hạn sulfid dễ bay hơi

Cho nút (có thể cắt nếu cần) với diện tích bề mặt $20\text{ cm}^2 \pm 2\text{ cm}^2$ vào bình nón dung tích 100 ml và thêm 50 ml dung dịch acid citric 2 %. Đặt giấy thấm chỉ acetat lên trên miệng bình và giữ giấy bằng cách úp một cốc thủy tinh lên miệng bình. Hấp ở $121\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ trong 30 phút, màu đen hiện lên không được đậm hơn màu của mẫu chuẩn (gồm 0,154 mg *natri sulfid* (TT) và 50 ml dung dịch acid citric (TT) 2 %), thực hiện giống như mẫu thử trong cùng thời gian.

Các phép thử đối với dịch chiết

Chuẩn bị dịch chiết (mẫu thử):

Lấy một số nút cao su tương ứng với diện tích bề mặt 100 cm^2 cho vào bình thủy tinh, thêm nước cất ngập nút, đun sôi 5 phút rồi đem rửa lại nút 5 lần bằng nước cất nguội.

Cho các nút đã rửa sạch vào bình thủy tinh trung tính (thủy tinh loại I) có miệng rộng, thêm 200 ml nước cất và cân bình. Đậy bình bằng một cốc thủy tinh trung tính hoặc giấy nhôm đã rửa sạch. Cho vào nồi hấp và nâng nhiệt độ đến $121\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ trong thời gian từ 20 phút đến 30 phút và duy trì ở nhiệt độ này trong 30 phút. Để nguội đến nhiệt độ phòng trong khoảng 30 phút. Thêm nước đến bằng khối lượng ban đầu. Lắc đều và gạn ngay lấy phần dung dịch bên trên (dung dịch A). Lắc dung dịch A trước khi thực hiện mỗi phép thử.

Mẫu trắng:

Cho 200 ml nước cất vào một bình thủy tinh trung tính (thủy tinh loại I) và thực hiện các bước tiếp theo trong cùng điều kiện như khi chuẩn bị mẫu thử.

Độ đục của dịch chiết từ nút

Dung dịch A không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (với nút loại I) và hỗn dịch đối chiếu III (với nút loại II) (Phụ lục 9.2).

Màu sắc của dịch chiết từ nút

Dung dịch A không được có màu đậm hơn màu của dung dịch VL₅ (Phụ lục 9.3).

Giới hạn acid - kiềm

Cho 20 ml dung dịch A vào bình nón, thêm 0,1 ml dung dịch xanh bromothymol (TT). Dung dịch phải chuyển sang màu xanh khi thêm không quá 0,3 ml dung dịch *natri hydroxyd* 0,01M (CD) hoặc dung dịch phải chuyển sang màu vàng khi thêm không quá 0,8 ml dung dịch acid hydrochloric 0,01M (CD).

Giới hạn kim loại nặng

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch A cho vào ống nghiệm, thêm 2 ml dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT), lắc đều. Thêm

1,2 ml dung dịch thioacetamid (TT). Để yên trong 2 phút. Màu tạo thành không được đậm hơn mẫu chuẩn làm trong cùng điều kiện, thay 12 ml dung dịch A bằng 10 ml dung dịch chì chuẩn 2 phần triệu Pb (TT) và 2 ml dung dịch A.

Giới hạn chất khử

Lấy 20 ml dung dịch A (mới được điều chế trong vòng 4 giờ), thêm 1 ml dung dịch acid sulfuric 1M (CD) và 20 ml dung dịch kali permanganat 0,002 M (CD). Đun sôi 3 phút. Làm nguội. Thêm 1 g kali iodid (TT) và chuẩn độ ngay bằng dung dịch *natri thiosulfat* 0,01 M (CD), chỉ thị hồ tinh bột.

Tiến hành song song với 20 ml mẫu trắng.

Thể tích dung dịch *natri thiosulfat* 0,01 M (CD) sử dụng cho mẫu thử so với mẫu trắng không được vượt quá 3 ml (với nút loại I) và 7 ml (với nút loại II).

Giới hạn cặn khô

Làm bay hơi trên cách thủy 50 ml dung dịch A đến khô, sấy cặn ở $100\text{ }^\circ\text{C}$ đến $105\text{ }^\circ\text{C}$ đến khối lượng không đổi. Lượng cặn khô không được quá 2 mg (với nút loại I) và 4 mg (với nút loại II).

Giới hạn amoni

Kiểm hóa 5 ml dung dịch A bằng dung dịch *natri hydroxyd* 2M (CD), pha loãng bằng nước cất đến 15 ml, thêm 0,3 ml thuốc thử Nessler (TT), để yên 30 giây. Màu tạo thành không được đậm hơn mẫu chuẩn. Mẫu chuẩn gồm 10 ml dung dịch amoni mẫu 1 phần triệu NH₄ (TT), một thể tích dung dịch *natri hydroxyd* 2M (TT) bằng thể tích đã cho vào mẫu thử, thêm nước đến 15 ml và 0,3 ml thuốc thử Nessler (TT).

Độ hấp thụ ánh sáng

Lấy dung dịch A (mới được điều chế trong vòng 5 giờ) lọc qua màng có lỗ lọc $0,45\text{ }\mu\text{m}$, bỏ đi vài ml dịch lọc đầu. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc trong dải có bước sóng từ 220 nm đến 360 nm, dùng mẫu trắng để hiệu chuẩn. Độ hấp thụ ánh sáng không được vượt quá 0,2 (loại I) và 0,4 (loại II).

Giới hạn kẽm hòa tan

Không được quá 5 μg kẽm trong 1 ml dung dịch A.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4).

Dung dịch thử: Lấy 10 ml dung dịch A cho vào bình định mức 100 ml, thêm dung dịch acid hydrochloric 0,1M (TT), đến vạch, lắc đều.

Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị dung dịch đối chiếu bằng cách dùng dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu Zn (TT) pha loãng với dung dịch acid hydrochloric 0,1M (TT).

Bước sóng: 213,9 nm.

Nguồn sáng: Đèn cathod rỗng kẽm.

Ngọn lửa: Không khí - acetylen.

17.6 BƠM TIÊM VÔ KHUẨN BẰNG CHẤT ĐEO SỬ DỤNG MỘT LẦN

Bơm tiêm vô khuẩn bằng chất dẻo sử dụng một lần là dụng cụ y tế sử dụng được ngay để đưa thuốc tiêm vào cơ thể. Loại bơm tiêm này đáp ứng vô khuẩn và không có chất gây sốt, chỉ sử dụng một lần, không được tái tiết khuẩn hoặc dùng lại. Bơm tiêm gồm có một ống bơm tiêm hình trụ và một pít tông, giữa ống bơm tiêm và pít tông có thể có một vòng đàn hồi để làm kín khít, kim tiêm có thể gắn vào ống bơm tiêm và không tháo rời được. Mỗi bơm tiêm được bao gói bảo quản riêng để đảm bảo vô khuẩn.

Ống bơm tiêm phải trong để có thể đọc được dễ dàng lượng thuốc cần dùng và có thể kiểm tra bằng mắt thường bọt khí và các phần tử lạ.

Chất dẻo và nguyên liệu có tính đàn hồi làm ống bơm tiêm và pít tông phải đáp ứng các yêu cầu kỹ thuật thích hợp hoặc các yêu cầu của cơ quan y tế có thẩm quyền. Nguyên liệu thông dụng nhất là polypropylen và polyethylen. Loại bơm tiêm này phải đáp ứng các tiêu chuẩn hiện hành về kích cỡ và tính năng.

Có thể tráng dầu silicon (Phụ lục 17.7) vào mặt trong của ống bơm tiêm để giúp vận hành bơm tiêm được nhẹ nhàng nhưng không được thừa dư làm ảnh hưởng tới chất lượng thuốc tiêm khi sử dụng.

Mực, hồ dán, chất kết dính dùng để đánh dấu trên bơm tiêm hoặc trên đồ bao gói và tại những nơi cần thiết khi lắp ráp và đóng gói bơm tiêm, không được để ngấm qua các thành ống.

Dung dịch S: Pha chế dung dịch S một cách cẩn thận không để bị nhiễm bẩn bởi các tiểu phân lạ. Lấy một số lượng bơm tiêm đủ để tạo 50 ml dung dịch. Cho nước để pha thuốc tiêm vào các bơm tiêm đến dung tích qui định và để ở nhiệt độ 37 °C trong 24 giờ. Gộp các dung dịch lấy ra từ bơm tiêm vào trong một bình thủy tinh borosilicat thích hợp.

Độ trong và màu sắc dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, Phương pháp 2) và không được có các tiểu phân rắn lạ.

Giới hạn acid-kiềm

Lấy 20 ml dung dịch S, thêm 0,1ml *dung dịch xanh bromothymol* (TT). Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,3 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M* (CĐ) hoặc *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* (CĐ).

Độ hấp thụ ánh sáng

Độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch S (Phụ lục 4.1) không được quá 0,4 trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 360 nm.

Ethylen oxid

Nếu nhãn ghi rõ có dùng ethylen oxid để tiết khuẩn thì lượng ethylen oxyd không được lớn hơn 10 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (1,5 m × 6,4 mm) được nhồi *diatomit silan hóa và tẩm 30 % (kl/kl) macrogol 1500*.

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*.

Tốc độ dòng: 20 ml/phút.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Duy trì nhiệt độ vận hành cột ở 40 °C, buồng tiêm ở 100 °C, detector ở 150 °C.

Kiểm tra đảm bảo không có các pic khác ảnh hưởng lên pic của ethylen oxyd bằng một trong hai cách sau:

1) Tiến hành sắc ký sử dụng bơm tiêm không được tiết khuẩn hoặc; 2) Tiến hành qui trình sắc ký theo qui định như trên nhưng dùng cột thép không gỉ (3 m × 3,2 mm) được nhồi *diatomit silan hóa được tẩm 20 % (kl/kl) triscyanoethoxypropan* (TT). Duy trì nhiệt độ cột ở 60 °C.

Dung dịch ethylen oxyd: Tiến hành trong tủ hút. Lấy 50,0 ml *dimethylacetamid* (TT) vào một lọ thủy tinh dung tích 50 ml, nút lọ lại và đóng nút chắc chắn. Cân khối lượng lọ (chính xác đến 0,1 mg). Nạp đầy khí *ethylen oxyd* (TT) vào một bơm tiêm (bằng polyethylen hoặc polypropylen) có dung tích 50 ml. Giữ cho khí tiếp xúc với mặt trong của bơm tiêm khoảng 3 phút, rồi đẩy hết khí ra khỏi bơm tiêm và lại nạp đầy 50 ml khí *ethylen oxyd* (TT) vào bơm tiêm. Lắp một kim tiêm (loại tiêm dưới da) vào bơm tiêm và đẩy bớt khí ra khỏi bơm tiêm đến khi thể tích khí trong bơm tiêm còn 25 ml. Tiêm từ từ lượng khí trong bơm tiêm này vào lọ đã chuẩn bị trên. Lắc nhẹ nhàng, tránh không cho kim tiếp xúc với *dimethylacetamid* trong lọ. Cân lại khối lượng lọ. Khối lượng tăng khoảng 45 mg đến 60 mg. Dùng khối lượng tăng này để tính toán nồng độ chính xác của dung dịch khí ethylen oxyd trong *dimethylacetamid* (khoảng 1g/lít).

Xây dựng đường chuẩn: Chuẩn bị 7 lọ thủy tinh (cùng loại như đã dùng để chuẩn bị dung dịch thử), trong mỗi lọ đã có sẵn 150 ml *dimethylacetamid* (TT). Lần lượt cho vào các lọ 0 ml; 0,05 ml; 0,10 ml; 0,20 ml; 0,50 ml; 1,00 ml và 2,00 ml dung dịch ethylen oxyd tương ứng với khoảng 0 µg; 50 µg; 100 µg; 200 µg; 500 µg; 1000 µg và 2000 µg ethylen oxyd. Đậy nút các lọ và đóng nút chắc chắn. Đặt các lọ này vào tủ sấy ở nhiệt độ 70 °C ± 1 °C trong 16 giờ. Tiêm 1 ml khí nóng của từng lọ vào cột và vẽ đường chuẩn từ chiều cao của các pic và khối lượng ethylen oxyd có trong mỗi lọ.

Cách tiến hành: Lấy bơm tiêm ra khỏi đồ bao gói và cân bơm tiêm. Cắt bơm tiêm thành từng mảnh có kích thước cạnh không quá 1 cm và cho vào trong một lọ thủy tinh dung tích 250 ml đến 500 ml đã có sẵn 150 ml *dimethylacetamid* (TT). Nút lọ bằng một nút thích hợp và đóng nút chắc chắn. Đặt lọ vào tủ sấy ở nhiệt độ 70 °C ± 1 °C trong 16 giờ. Lấy 1 ml khí nóng từ lọ và tiêm vào cột. Tính khối lượng ethylen oxyd trong lọ dựa vào đường chuẩn và chiều cao của pic thu được.

Dầu Silicon

Tính diện tích bề mặt trong (cm^2) của một bơm tiêm theo biểu thức:

$$2\sqrt{v \cdot \pi \cdot h}$$

Trong đó:

v là dung tích qui định của bơm tiêm (cm^3);

h là chiều cao của phần chia vạch khắc (cm).

Lấy một lượng bơm tiêm đủ để có diện tích bề mặt trong khoảng từ 100 cm^2 đến 200 cm^2 . Hút vào mỗi bơm tiêm một lượng *methylen clorid* (TT) bằng một nửa dung tích qui định và hút tiếp không khí vào cho tới dung tích qui định. Rửa bề mặt trong tương ứng dung tích qui định với dung môi này bằng cách đảo ngược bơm tiêm 10 lần liên tiếp, dùng ngón tay có bọc màng chất dẻo (trơ với *methylen clorid*) để bịt kín kim tiêm. Đẩy các dịch chiết trong bơm tiêm vào một đĩa đã cân bì và tiến hành chiết như vậy với các bơm tiêm còn lại. Bốc hơi dịch chiết đến khô trên cách thủy. Sấy khô ở nhiệt độ 100°C đến 105°C trong 1 giờ. Khối lượng cân không được quá $0,25 \text{ mg/cm}^2$ diện tích bề mặt trong.

Định tính cân bằng phương pháp quang phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2). Căn cứ dải hấp thụ đặc trưng của dầu silicon ở 805 cm^{-1} , 1020 cm^{-1} , 1095 cm^{-1} , 1260 cm^{-1} và 2960 cm^{-1} .

Chất khử

Lấy $20,0 \text{ ml}$ dung dịch S, thêm 2 ml *acid sulfuric* (TT) và $20,0 \text{ ml}$ *dung dịch kali permanganat* $0,002 \text{ M}$ (CD). Đun sôi 3 phút. Sau đó làm nguội ngay. Thêm 1 g *kali iodid* (TT) và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat* $0,01 \text{ M}$ (CD), dùng $0,25 \text{ ml}$ *dung dịch hồ tinh bột* (TT) làm chỉ thị. Song song làm mẫu trắng với $20,0 \text{ ml}$ *nước để pha thuốc tiêm* (TT). Hiệu số giữa hai thể tích dung dịch chuẩn độ đã tiêu thụ không được lớn hơn $3,0 \text{ ml}$.

Độ trong suốt

Đóng đầy *nước* vào một bơm tiêm (mẫu trắng) và đóng đầy hỗn dịch chuẩn đục gốc (Phụ lục 9.2) đã pha loãng 10 lần vào một bơm tiêm khác. Dùng hỗn dịch chuẩn đục gốc đã để yên ở $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ trong 24 giờ. Quan sát bằng mắt thường trong ánh sáng khuếch tán trên nền đen. Độ đục của hỗn dịch phải được nhận biết rõ khi so sánh với mẫu trắng.

Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7)

Bơm tiêm qui định vô khuẩn phải đáp ứng phép thử vô khuẩn tiến hành như sau: Sử dụng kỹ thuật vô khuẩn, mở đồ bao gói, tháo rời các bộ phận và đặt mỗi thứ vào một bình chứa thích hợp có chứa sẵn một lượng môi trường cấy thích hợp đủ để ngâm chìm hoàn toàn bộ phận đó.

Bơm tiêm qui định chỉ mặt trong là vô khuẩn phải đáp ứng phép thử vô khuẩn tiến hành như sau: Dùng 50 ml

môi trường cấy cho mỗi bơm tiêm để thử. Sử dụng kỹ thuật vô khuẩn, tháo bộ phận bảo vệ kim tiêm ra và ngâm chìm kim tiêm trong môi trường cấy. Rửa xít bơm tiêm 5 lần bằng cách kéo pít tông tới mức cao nhất có thể được.

Chất gây sốt (Phụ lục 13.4)

Bơm tiêm có dung tích qui định từ 15 ml trở lên phải đáp ứng phép thử chất gây sốt. Dùng ít nhất 3 bơm tiêm để thử. Cho *dung dịch natri clorid* $0,9 \%$ (TT) không có chất gây sốt vào bơm tiêm tới dung tích qui định và giữ ở nhiệt độ 37°C trong 2 giờ. Gộp toàn bộ các dung dịch này trong điều kiện vô khuẩn vào một bình chứa không có chất gây sốt và tiến hành thử nghiệm ngay. Dùng dung dịch này để thử chất gây sốt với liều 10 ml/kg thể trọng thỏ.

Ghi nhãn

Nhãn trên bao bì ghi rõ:

Số lô;

Mô tả bơm tiêm;

Bơm tiêm này chỉ được sử dụng một lần.

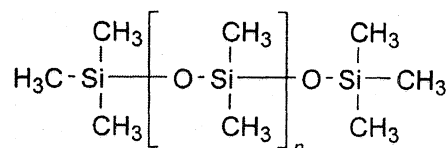
Nhãn trên bao bì ngoài ghi rõ:

Phương pháp tiệt khuẩn;

Bơm tiêm này vô khuẩn hoặc chỉ mặt trong bơm tiêm là vô khuẩn;

Tên, địa chỉ và logo nhà sản xuất;

Không được sử dụng bơm tiêm này nếu đồ bao gói bị hỏng hoặc bộ phận bảo vệ vô khuẩn không khít.

17.7 DẦU SILICON DÙNG BÔI TRON

Dầu silicon dùng bôi trơn là một poly (dimethylsiloxan) được tạo thành bằng cách thủy phân và đa trùng ngưng của dicloromethylsilan và clorotrimethylsilan. Dầu silicon dùng bôi trơn có nhiều loại khác nhau, mỗi loại có chỉ số độ nhớt qui định đặt sau tên sản phẩm.

Dầu silicon dùng bôi trơn có độ polymer hóa ($n = 400$ đến 1200) tương đương độ nhớt động học của chúng trong khoảng từ $1000 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ đến $30000 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

Tính chất

Chất lỏng không màu, trong, có độ nhớt khác nhau. Thực tế không tan trong nước và trong methanol, trộn lẫn được với ethyl acetat, methyl ethylceton và toluen, rất khó tan trong ethanol.

Định tính

A. Độ nhớt động học ở 25 °C (Xem phép thử Độ nhớt).

B. Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2), so sánh với phổ của dầu silicon dùng bôi trơn chuẩn. Không tính đến miền phổ từ 850 cm⁻¹ đến 750 cm⁻¹ vì ở dải phổ này có sự khác biệt nhỏ tùy theo độ polymer hóa.

C. Đốt nóng 0,5 g chế phẩm trong một ống nghiệm trên ngọn lửa nhỏ đến khi bắt đầu có khói trắng xuất hiện. Úp ngược ống nghiệm này lên một ống nghiệm thứ hai có chứa 1 ml dung dịch *muối natri của acid cromotropic (TT)* 0,1 % trong *acid sulphuric (TT)* sao cho khói tiếp xúc với dung dịch. Lắc ống nghiệm thứ hai trong khoảng 10 giây và đun nóng trên cách thủy trong 5 phút. Dung dịch có màu tím.

D. Trong một chén platin, chuẩn bị như phép thử tro sulfat (Phụ lục 9.9); dùng 50 mg chế phẩm. Cẩn thu được là bột màu trắng và cho phản ứng của silicat (Phụ lục 8.1).

Độ acid

Lấy 2,0 g chế phẩm, thêm 25 ml hỗn hợp đồng thể tích *ethanol (TT)* và *ether (TT)* đã được trung hòa trước với 0,2 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* làm chỉ thị và lắc. Lượng *dung dịch natri hydroxyd* 0,01 M (CE) dùng để chuyển màu của dung dịch thành màu xanh lam không được quá 0,15 ml.

Độ nhớt

Xác định độ nhớt lực học ở 25 °C (Phụ lục 6.3). Tính độ nhớt động học, lấy tỷ trọng tương đối là 0,97. Độ nhớt động học không được nhỏ hơn 95 % và không lớn hơn 105 % độ nhớt qui định trên nhãn.

Dầu khoáng

Lấy 2 ml chế phẩm vào ống nghiệm và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm. Huỳnh quang của chế phẩm không được đậm hơn huỳnh quang của 2 ml dung dịch có chứa 0,1 phần triệu quinin sulfat trong dung dịch *acid sulphuric* 0,005 M được quan sát trong cùng điều kiện.

Hợp phần phenylat

Chỉ số khúc xạ (Phụ lục 6.1) không lớn hơn 1,410.

Kim loại nặng

Không quá 5 phần triệu.

Trộn 1,0 g chế phẩm với *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Thêm 1,0 ml *dung dịch dithizon* 0,002 % trong *methylen clorid (TT)* mới pha, 0,5 ml *nước* và 0,5 ml hỗn hợp A gồm *dung dịch amoniac* 2 M (TT) và *dung dịch hydroxyl-amin hydroclorid (TT)* (1 : 9). Song song chuẩn bị mẫu đối chiếu như sau: Lấy 20 ml *methylen clorid (TT)* thêm 1 ml *dung dịch dithizon* 0,002 % trong *methylen clorid (TT)* mới pha, 0,5 ml *dung dịch chì mẫu*

10 phần triệu Pb và 0,5 ml hỗn hợp A. Lắc kỹ ngay mỗi dung dịch này trong 1 phút. Màu đỏ trong dung dịch thử không được đậm hơn màu đỏ trong dung dịch đối chiếu.

Chất bay hơi

Không được quá 2,0 %.

Lấy 2,00 g chế phẩm vào một đĩa có đường kính 60 mm và sâu 10 mm, sấy ở nhiệt độ 150 °C trong 24 giờ.

Nhãn

Nhãn chỉ rõ độ nhớt qui định bằng con số đặt ở sau tên của sản phẩm. Nhãn cũng ghi rõ sản phẩm được sử dụng làm chất bôi trơn.

PHỤ LỤC 18

BẢNG NGUYÊN TỬ LƯỢNG CÁC NGUYÊN TỐ

Theo tài liệu của Liên đoàn quốc tế về hóa học thuần túy và ứng dụng xuất bản năm 1989 (Pure Appl. Chem. 1991, 63, 978).

Tên nguyên tố*	Ký hiệu	Nguyên tử số	Nguyên tử lượng
Argon	Ar	18	39,948
Arsen	As	33	74,9216
Bạc (Argentum)	Ag	47	107,8682
Bari	Ba	56	137,327
Beryli	Be	4	9,0122
Bismuth	Bi	83	208,9804
Bor	B	5	10,811
Brom	Br	35	79,904
Cadmi	Cd	48	112,411
Calci	Ca	20	40,078
Carbon	C	6	12,011
Ceri	Ce	58	140,115
Cesi	Cs	55	132,9054
Chì (Plumbum)	Pb	82	207,2
Clor	Cl	17	35,4527
Cobalt	Co	27	58,9332
Crom	Cr	24	51,9961
Đồng (Cuprum)	Cu	29	63,546
Dysprosi	Dy	66	162,5
Erbi	Er	68	167,26
Europi	Eu	63	151,965
Fluor	F	9	18,9984
Gadolini	Gd	64	157,25
Gali	Ga	31	69,723
Germani	Ge	32	72,61
Hafni	Hf	72	178,49
Heli	He	2	4,0026
Holmi	Ho	67	163,9303
Hydrogen	H	1	1,0079
Indi	In	49	114,82
Iod	I	53	126,9045
Iridi	Ir	77	192,22
Kali	K	19	39,0983
Kẽm (Zincum)	Zn	30	65,39
Krypton	Kr	36	83,8
Lanthan	La	57	138,9055
Lithi	Li	3	6,941
Luteti	Lu	71	174,967

Tên nguyên tố*	Ký hiệu	Nguyên tử số	Nguyên tử lượng
Lưu huỳnh (Sulfur)	S	16	32,066
Mangan	Mn	25	54,9381
Mangnesi	Mg	12	24,305
Molybden	Mo	42	95,94
Natri	Na	11	22,9898
Neodymi	Nd	60	144,24
Neon	Ne	10	20,1797
Nhôm (Aluminium)	Al	13	26,9815
Nickel (Niccolum)	Ni	28	58,6934
Niobi	Nb	41	92,9064
Nitrogen	N	7	14,0067
Osmi	Os	76	190,2
Oxygen	O	8	15,9994
Paladi	Pd	46	106,42
Phosphor	P	15	30,9738
Platin	Pt	78	195,08
Prasodymi	Pr	59	140,9077
Rheni	Re	75	186,207
Rhodi	Rh	45	102,9055
Rubidi	Rb	37	85,4678
Rutheni	Ru	44	101,07
Samari	Sm	62	150,36
Sắt (Iron)	Fe	26	55,847
Scandi	Sc	21	44,9559
Selen	Se	34	78,96
Silic (Silicium)	Si	14	28,0855
Stibi (Antimony)	Sb	51	121,757
Stronti	Sr	38	87,62
Tantal	Ta	73	180,9479
Techneti	Tc	43	(97)
Telur	Te	52	127,6
Terbi	Tb	65	158,9253
Thali	Tl	81	204,3833
Thiếc (Stannium)	Sn	50	118,7
Thori	Th	90	232,0381
Thuli	Tm	69	168,9342
Thủy ngân (Hydragyrum)	Hg	80	200,59
Titan	Ti	22	47,88
Uran	U	92	238,0289
Vanadi	V	23	50,9415
Vàng (Aurum)	Au	79	196,9665
Wolfram	W	74	183,85
Xenon	Xe	54	131,29
Yterbi	Yb	70	173,04
Ytri	Y	39	88,9059
Zirconi	Zr	40	91,224

* Các nguyên tố không có thành phần đồng vị đặc trưng trên trái đất thì không được ghi trong bảng này.