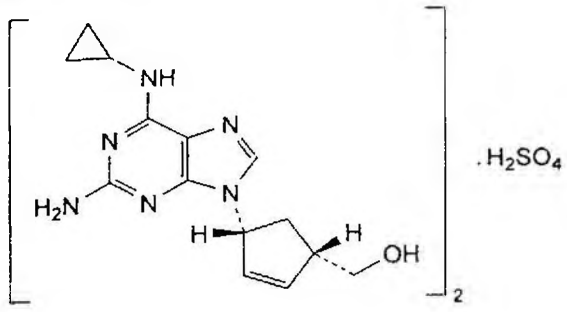
Các chuyên luận
NGUYÊN LIỆU HÓA DƯỢC
VÀ THÀNH PHẨM HÓA DƯỢC

ABACAVIR SULFAT

Abacaviri sulfas



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

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

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng.

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

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B và D.

Nhóm II: A, C và D.

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

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

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

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

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

Tạp chất đồng phân đối quang

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

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

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

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

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

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

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

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

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 30 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

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

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

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

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

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

Giới hạn:

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

Ghi chú:

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

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

Tạp chất liên quan

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

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

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

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

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

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

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 30 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ghi chú:

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

Kim loại nặng

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

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

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 60,0 mg chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

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

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

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

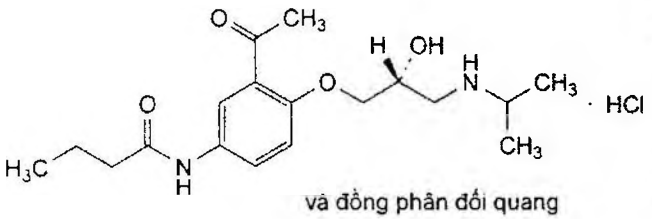
Thuốc kháng virus HIV.

Chế phẩm

Viên nén, dung dịch uống.

ACEBUTOLOL HYDROCLORID

Acebutolol hydrochloridum



và đồng phân đối quang

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

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

Tính chất

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

Nhiệt độ nóng chảy khoảng 143 °C.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

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

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

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

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

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

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

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

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

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

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

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

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

pH

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

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

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

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

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

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

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

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

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

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

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 40 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 25 µl.

Cách tiến hành:

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

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

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

Giới hạn:

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

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

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

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

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

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

Ghi chú:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chẹn beta-adrenergic.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

VIÊN NÉN ACEBUTOLOL
Tabellae Acebutololi

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

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

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

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

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

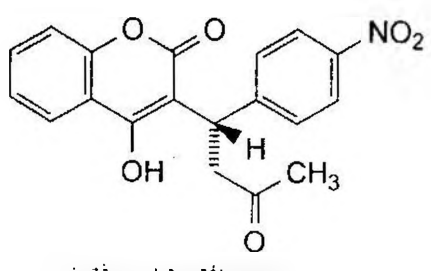
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 2,4 g *natri decanesulfonat (TT)* trong 1000 ml *nước*, chỉnh pH đến 3,5 bằng *acid acetic băng (TT)*.
Pha động: *Methanol - dung dịch đệm* (60 : 40). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng chất chuẩn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

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

Loại thuốc
Chẹn beta-adrenergic.

Hàm lượng thường dùng
200 mg; 400 mg.

ACENOCOUMAROL
Acenocoumarolum



và đồng phân đối quang

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Loại thuốc
Chống đông máu.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN ACENOCOUMAROL
Tabellae Acenocoumaroli

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

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

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

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

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

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

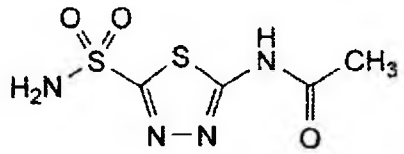
Bảo quản
Trong đồ đựng kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống đông máu.

Hàm lượng thường dùng
4 mg.

ACETAZOLAMID

Acetazolamidum



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

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

Tính chất

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

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

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

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

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

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

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

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

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

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

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

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

Điều kiện sắc ký:

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

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 25 µl.

Cách tiến hành:

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

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

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

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

Giới hạn:

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

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

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

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

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

Ghi chú:

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

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

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

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

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

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

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

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

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc điều trị glôcôm.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN ACETAZOLAMID
Tabellae Acetazolamidi

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Điều kiện sắc ký

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

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

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µml.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký:

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

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

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

Bảo quản

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

Loại thuốc

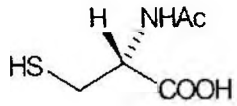
Thuốc điều trị glôcôm.

Hàm lượng thường dùng

125 mg, 250 mg.

ACETYLCYSTEIN

Acetylcysteinum



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

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

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể không màu.

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

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

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

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

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

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

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

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

pH

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

Góc quay cực riêng

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

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

Tạp chất liên quan

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

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

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

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

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

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

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

Điều kiện sắc ký:

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

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

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

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

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

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

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

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

Trong đó:

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

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

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

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

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

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

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

Giới hạn:

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

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

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

Kẽm

Không được quá 10 phần triệu.

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

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

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

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

Kim loại nặng

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

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

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

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

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

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

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

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

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

Chế phẩm
Thuốc tiêm, thuốc bột, nang.

BỘT PHA HỖN DỊCH ACETYLCYSTEIN
Pulveres Acetylcysteini

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

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

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

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

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

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

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

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

Hàm lượng thường dùng
200 mg.

NANG ACETYLCYSTEIN
Capsulae Acetylcysteini

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

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

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

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

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

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

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

Điều kiện sắc ký:

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

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

Thể tích tiêm: 20 µl.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Cách tiến hành:

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

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

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

Bảo quản

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

Loại thuốc

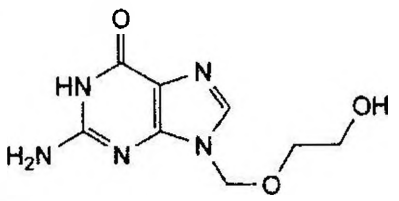
Thuốc điều hòa sự tiết dịch của phế quản.

Hàm lượng thường dùng

200 mg.

ACICLOVIR

Aciclovirum



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

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

Tính chất

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

Định tính

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Điều kiện sắc ký:

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

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

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

Cách tiến hành:

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

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

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

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

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

Giới hạn:

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

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

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

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

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

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

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

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

Ghi chú:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tạp chất N: Chưa xác định cấu trúc.

Tạp chất O: Chưa xác định cấu trúc.

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

Nước

Không được quá 6,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

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

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

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Thuốc chống virus.

Chế phẩm

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

KEM ACICLOVIR
Cremoris Acicloviri

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

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

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

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

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

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

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

Loại thuốc
Thuốc chống virus.

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

VIÊN NÉN ACICLOVIR
Tabellae Acicloviri

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

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

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

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

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

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

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

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

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

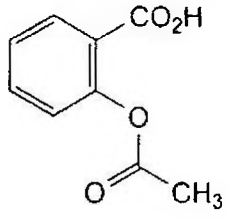
Loại thuốc
Thuốc chống virus.

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

ACID ACETYLSALICYLIC

Acidum acetylsalicylicum

Aspirin



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

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

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

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

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

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

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

Tạp chất liên quan

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

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

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

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

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

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

Điều kiện sắc ký:

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

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

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

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

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

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

Giới hạn:

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

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

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

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

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid 4-hydroxybenzoic.

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

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

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

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

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

Kim loại nặng

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

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

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; trong chân không).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

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

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

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Hạ nhiệt, giảm đau, kháng viêm.

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

VIÊN NÉN ACID ACETYLSALICYLIC
Tabellae Acidi acetylsalicylici
Viên nén aspirin

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Giai đoạn trong môi trường acid

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

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

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 2 h.

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

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

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

Giai đoạn trong môi trường đệm

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

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

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

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Thay thế dung dịch acid hydrocloric 0,1 M trong bình thử độ hòa tan bằng 900 ml *đệm phosphat hỗn hợp pH 6,8 (TT)* đã làm nóng trước đến 37 °C ± 0,5 °C. Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan (nếu cần) và đo ngay độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được (dung dịch thử) ở bước sóng 265 nm với mẫu trắng là *đệm phosphat hỗn hợp pH 6.8 (TT)*. So sánh với dung dịch acid acetylsalicylic chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng dung môi.

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

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

Giới hạn acid salicylic tự do

Không được quá 3,0 %.

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

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

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

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

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

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

Điều kiện sắc ký:

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

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành :

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

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

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

Định lượng

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

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

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

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

Cách tiến hành:

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

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

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

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

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

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

VIÊN NÉN ASPIRIN VÀ CAFEIN
Tabellae Aspirini et Caffeini

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

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

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

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

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

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

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

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Hạ nhiệt giảm đau.

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

ACID AMINOCAPROIC
Acidum aminocaproicum

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

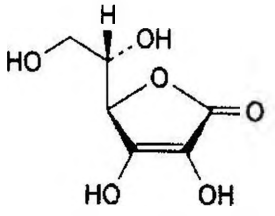
Loại thuốc
Thuốc kháng tiêu fibrin, thuốc cầm máu.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

ACID ASCORBIC

Acidum ascorbicum

Vitamin C, acid L-ascorbic



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

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

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

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

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

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

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

ascorbic với pic của tạp chất C ít nhất là 3,0; trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 20 đối với pic của tạp chất C.

Giới hạn:

Tạp chất C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic của acid ascorbic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất khác trừ tạp chất C và D: Không được lớn hơn 2 lần diện tích pic của acid ascorbic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic của acid ascorbic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 2-furaldehyd.

Tạp chất C: Acid D-*xylo*-hex-2-ulosonic (acid D-sorbosonic).

Tạp chất D: Methyl D-*xylo*-hex-2-ulosonat (methyl D-sorbosonic).

Tạp chất E: Acid oxalic.

Tạp chất F: (5*R*)-5-[(1*R*)-1,2-dihydroxyethyl]-3,4-dihydroxyfuran-2(5*H*)-on.

Tạp chất G: Acid (2*R*)-2-[(2*R*)-3,4-dihydroxy-5-oxo-2,5-dihydroxy-furan-2-yl]-2-hydroxyacetic.

Tạp chất H: (2*R*)-2-[(2*R*)-3,4-dihydroxy-5-oxo-2,5-dihydroxyfuran-2-yl]-2-hydroxyacetat.

Acid oxalic

Không được quá 0,2 %.

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

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

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

Đồng

Không được quá 5 phần triệu.

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

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

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

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

Sắt

Không được quá 2 phần triệu.

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

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

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn sắt có nồng độ 0,2; 0,4 và 0,6 phần triệu bằng cách pha loãng *dung dịch sắt mẫu 20 phần triệu Fe (TT)* bằng *dung dịch acid nitric 0,1 M (TT)*.

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

Kim loại nặng

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

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

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

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

1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 8,81 mg $C_6H_8O_6$.

Bảo quản

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

Loại thuốc

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

Chế phẩm

Viên nén, nang, thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM ACID ASCORBIC

Injectio Acidi ascorbici

Thuốc tiêm vitamin C

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

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

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

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

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

pH
Từ 5,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

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

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

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

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

Loại thuốc
Vitamin.

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

VIÊN NÉN ACID ASCORBIC
Tabellae Acidi ascorbici
Viên nén vitamin C

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

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

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

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

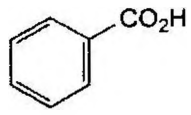
1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 8,806 mg $C_6H_8O_6$.

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

Loại thuốc
Vitamin.

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

ACID BENZOIC
Acidum benzoicum



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Bảo quản
Trong chai lọ nút kín.

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

THUỐC MỠ BENZOSALI
Unguentum Benzosalicylici

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

Công thức

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

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

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

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

Tính chất

Thuốc mỡ màu trắng đục.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

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

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

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

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

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

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

Định lượng

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

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

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

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

Bảo quản

Trong bao bì kín, ở nơi mát.

ACID BORIC

Acidum boricum

H_3BO_3 P.t.l: 61,8

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

Tính chất

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

Định tính

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

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

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

pH

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

Độ tan trong ethanol 96 %

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

Tạp chất hữu cơ

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

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

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

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

DUNG DỊCH ACID BORIC 3 %
Solutio Acidi borici 3 %

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

Công thức điều chế

Acid boric	3 g
Nước tinh khiết vđ	100 ml

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

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

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

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

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

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

Bảo quản
Đựng trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Sát khuẩn tại chỗ.

THUỐC MỠ ACID BORIC 10 %
Unguentum Acidi borici 10 %

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

Công thức

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

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

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

Tính chất
Thuốc mỡ màu trắng hoặc vàng nhạt.

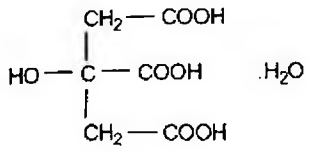
Định tính
Lấy 1 g chế phẩm cho vào một bát sứ, thêm 4 ml *ethanol (TT)* và 1 giọt *acid sulfuric đậm đặc (TT)*. Châm lửa đốt (vừa đốt vừa khuấy bằng một đũa thủy tinh). Ngọn lửa có viền màu xanh lá.

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

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

ACID CITRIC NGẬM MỘT PHÂN TỬ NƯỚC

Acidum citricum monohydricum



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

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

Tính chất

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

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, E.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acid citric monohydrat chuẩn, đo sau khi mẫu thử và chuẩn được sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 2 h.
B. Hòa tan 1 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, dung dịch thu được phải có pH nhỏ hơn 4 (Phụ lục 6.2).
C. Thêm khoảng 5 mg chế phẩm vào hỗn hợp gồm 1 ml *anhydrid acetic (TT)* và 3 ml *pyridin (TT)*. Màu đỏ xuất hiện.
D. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* (khoảng 7 ml), thêm 10 ml *dung dịch calci clorid (TT)*, đun sôi, kết tủa trắng được tạo thành.
E. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Nước.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

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

Chất dễ bị carbon hóa

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

Acid oxalic

Không được quá 0,036 %, tính theo acid oxalic khan.
Hòa tan 0,80 g chế phẩm trong 4 ml *nước*. Thêm 3 ml *acid hydrocloric (TT)* và 1 g *kẽm (TT)* dạng hạt, đun sôi 1 min và để yên trong 2 min. Chuyển lớp dung dịch ở phía trên vào một ống nghiệm có chứa 0,25 ml *dung dịch phenylhydrazin hydroclorid 1 %*, đun đến sôi. Làm nguội nhanh rồi chuyển dung dịch sang một ống đong có chia vạch. Thêm đồng lượng thể tích *acid hydrocloric (TT)*, 0,25 ml *dung dịch kali fericyanid 5 %*, lắc đều và để yên 30 min. Dung dịch không được có màu hồng đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị đồng thời và tương tự như dung dịch thử, dùng 4 ml *dung dịch acid oxalic 0,01 %*.

Sulfat

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

Nhôm

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

Kim loại nặng

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

Nước

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

Tro sulfat

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

Nội độc tố vi khuẩn

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

Định lượng

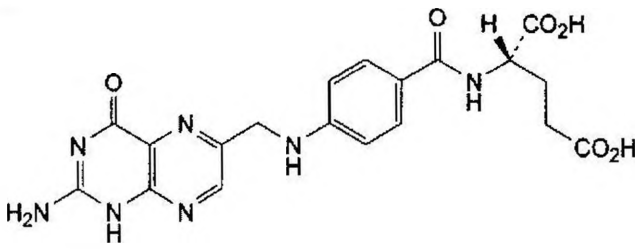
Hòa tan 0,550 g chế phẩm trong 50 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)*, dùng 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* tương đương với 64,03 mg $C_6H_8O_7$.

Bảo quản

Trong lọ kín.

ACID FOLIC

Acidum folicum



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

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

Tính chất

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

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: A, C.

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

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

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

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

Bản mỏng: Silica gel G.

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

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

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

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

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

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

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

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

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

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

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

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

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 0,6 ml/min.

Thể tích tiêm: 5 µl.

Cách tiến hành:

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

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

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

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

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

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

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

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

Ghi chú:

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

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

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

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

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

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

Nước

Từ 5,0 % đến 8,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,150 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng của $C_{19}H_{19}N_7O_6$ trong chế phẩm dựa trên diện tích pic của acid folic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của acid folic chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Ngăn ngừa và điều trị bệnh thiếu máu.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN ACID FOLIC
Tabellae Acidi folici

Là viên nén chứa acid folic.

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

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

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

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

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

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

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

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

Sản phẩm phân hủy

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Tiến hành thử nghiệm trong điều kiện tránh ánh sáng.

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

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

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

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm) (cột Spherisorb ODS1 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 269 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

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

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

Độ đồng đều hàm lượng

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

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

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

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

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

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

Loại thuốc
Vitamin.

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

ACID HYDROCLORIC
Acidum hydrochloricum

HCl P.t.l: 36,46

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ACID HYDROCLORIC LOÃNG
Acidum hydrochloricum dilutum

HCl P.t.l: 36,46

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

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

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

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

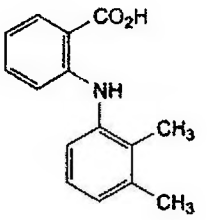
Sulfat
Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).
Thêm 10 mg *natri hydrocarbonat (TT)* vào 26 ml chế phẩm và bốc hơi đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 15 ml *nước* và tiến hành thử.

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

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

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

ACID MEFENAMIC
Acid mefenamicum



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi mát.

Loại thuốc
Thuốc giảm đau, chống viêm.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

VIÊN NÉN ACID MEFENAMIC
Tabellae Acidi mefenamici

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

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

Độ nhớt
Xem phần trên.

Tính chất của phim
Xem phần trên.

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

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

Acidi methacrylici et methylis methacrylatis polymerisatum (1 : 2)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Công dụng
Tá dược.

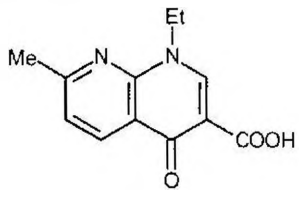
CÁC ĐẶC TÍNH LIÊN QUAN ĐẾN CÔNG DỤNG CỦA NGUYÊN LIỆU
Các đặc tính sau có thể liên quan đến việc sử dụng acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp (1 : 2) làm tá dược bao kháng dịch vị:

Độ nhớt
Xem phần trên.

Tính chất của phim
Xem phần trên.

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

ACID NALIDIXIC
Acidum nalidixicum



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Bảo quản
Trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm quinolon.

Chế phẩm
Viên nén, hỗn dịch uống.

VIÊN NÉN ACID NALIDIXIC
Tabellae Acidi nalidixici

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

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

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

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

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

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

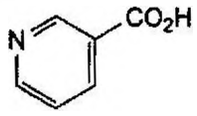
Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

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

ACID NICOTINIC

Acidum nicotinicum



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

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

Tính chất

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

Định tính

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

Tạp chất liên quan

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

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

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo hỗn hợp tạp chất chuẩn của acid nicotinic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A và tạp chất B.
Thời gian lưu tương đối so với acid nicotinic (thời gian lưu khoảng 6 min): Tạp chất A khoảng 2,7; tạp chất B khoảng 2,8.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A với pic của tạp chất B ít nhất là 1,5.
Giới hạn:
Các tạp chất: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,03 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid 6-methylpyridin-3-carboxylic (acid 6-methyl nicotinic).
Tạp chất B: Acid 2,2'-bipyridin-5,5'-dicarboxylic (acid 6,6'-dinicotinic).
Tạp chất C: 5-ethyl-2-methylpyridin.
Tạp chất D: Acid pyridin-2,5-dicarboxylic.
Tạp chất E: Acid pyridin-4-carboxylic (acid isonicotinic).
Tạp chất F: Acid 5-nitropyridin-3-carboxylic (acid 5-nitro nicotinic).
Tạp chất G: Pyridin.
Tạp chất H: 3-nitropyridin.
Tạp chất I: 3,5-dinitropyridin.

Clorid

Không được quá 200 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *nước* bằng cách đun cách thủy và pha loãng thành 15 ml với cùng dung môi rồi tiến hành thử.

Kim loại nặng

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

Định tính

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

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

2,3-Dimethylanilin

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

Bản mỏng: Silica gel G.

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

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

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

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

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

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

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

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

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

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Đặt bản mỏng vào bình thủy tinh kín chứa hơi iod trong 5 min và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch (1) không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch (2) (0,2 %). Bỏ qua bất kỳ vết nào có giá trị R_f nhỏ hơn hoặc bằng 0,04.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

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

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

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với *dung dịch đệm phosphat pH 8,0 (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 10 µg/ml.

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

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

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

Định lượng

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

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

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô.

Loại thuốc

Thuốc kháng viêm không steroid, giảm đau.

Hàm lượng thường dùng

250mg, 500 mg.

ACID METHACRYLIC VÀ ETHYL ACRYLAT ĐỒNG TRÙNG HỢP (1 : 1)

Acidi methacrylici et ethylis acrylatis polymerisatum (1 : 1)

Acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp có khối lượng phân tử tương đối trung bình khoảng 250 000. Tỷ lệ nhóm carboxylic so với nhóm ester khoảng 1 : 1. Chế phẩm có thể ở dạng acid (loại A) hoặc được trung hòa một phần bằng natri hydroxyd (loại B), có thể chứa chất diện hoạt như natri dodecyl sulfat và polysorbat 80.

Hàm lượng

Loại A: Từ 46,0 % đến 50,6 % đơn vị acid methacrylic (tính theo chế phẩm đã làm khô).

Loại B: Từ 43,0 % đến 48,0 % đơn vị acid methacrylic (tính theo chế phẩm đã làm khô).

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng, trơn chảy rất tốt.

Thực tế không tan trong nước (loại A) hoặc phân tán trong nước (loại B), thực tế không tan trong ethyl acetat, dễ tan trong ethanol khan và dung dịch natri hydroxyd 1 M.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2).

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 1 ml *ethanol 90 % (TT)* rồi nhỏ 2 giọt dung dịch thu được lên đĩa natri clorid, làm khô để lớp phim được hình thành rồi phủ một đĩa natri clorid khác lên trên. Phổ hấp thụ hồng ngoại thu được của chế phẩm phải phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1) đối chiếu (loại A hoặc loại B).

B. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu về giới hạn Hàm lượng.

C. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Tro sulfat.

Ethyl acrylat và acid methacrylic

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch đệm phosphat pH 2,0 (30 : 70).

Dung dịch mẫu trắng: Trộn đều 50,0 ml *methanol (TT)* và 25,0 ml pha động.

Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 50,0 ml *methanol (TT)* và 25,0 ml pha động.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg acid methacrylic chuẩn và 10 mg ethyl acrylat chuẩn trong *methanol (TT)* rồi pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 0,1 ml dung dịch này thành 50,0 ml với *methanol (TT)* rồi trộn với 25,0 ml pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Tốc độ dòng: 2,5 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 202 nm.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch mẫu trắng, dung dịch thử, dung dịch đối chiếu.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa pic ethyl acrylat và pic acid methacrylic không được nhỏ hơn 2,0. Sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng không được có các pic có thời gian lưu tương ứng với acid methacrylic và ethyl acrylat.

Giới hạn: Tổng hàm lượng ethyl acrylat và acid methacrylic tự do không được quá 0,1 %.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 105 °C, 6 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,4 % (loại A), hoặc từ 0,5 % đến 3,0 % (loại B) (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 40 ml *nước* và 60 ml *2-propanol (TT)*. Vừa khuấy vừa chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)*, dùng *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)* tương đương với 43,05 mg $C_4H_6O_2$ (đơn vị acid methacrylic).

Bảo quản

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

Nhãn

Phải ghi rõ loại A hay B.

Công dụng

Tá dược.

CÁC ĐẶC TÍNH LIÊN QUAN ĐẾN CÔNG DỤNG CỦA NGUYÊN LIỆU

Các đặc tính sau có thể liên quan đến việc sử dụng acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1) làm tá dược bao kháng dịch vị:

Độ nhớt biểu kiến

Tiến hành theo Phụ lục 6.3, phương pháp III.

Loại A: Từ 100 mPa·s đến 200 mPa·s. Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 37,5 g chế phẩm đã làm khô trong một hỗn hợp gồm 7,9 g *nước* và 254,6 g *2-propanol (TT)*. Xác định độ nhớt ở 20 °C sử dụng nhớt kế quay với tốc độ trượt là 10 s^{-1}.

Loại B: Không lớn hơn 100 mPa·s. Phân tán một lượng chế phẩm tương ứng với 80,0 chế phẩm đã làm khô vào trong *nước* rồi điều chỉnh đến 320 g với cùng dung môi. Khuấy trong 3 h rồi xác định độ nhớt sử dụng nhớt kế quay ở 23 °C và tốc độ quay 100 r/min (rotor 2).

Độ tan của phim
Nhỏ 1 ml dung dịch (loại A) hoặc dịch phân tán (loại B) thu được trong phép đo độ nhớt biểu kiến lên một đĩa thủy tinh và làm khô. Một lớp phim giòn, trong suốt được hình thành. Lấy một mảnh phim thu được cho vào bình nón có chứa *dung dịch đệm phosphat pH 6,8 (TT)* rồi khuấy. Mảnh phim phải tan.

DỊCH PHÂN TÁN 30 % CỦA ACID METHACRYLIC VÀ ETHYL ACRYLAT ĐỒNG TRÙNG HỢP (1 : 1)

Acidi methacrylici et ethylis acrylatis polymerisati 1 : 1 dispersio 30 per centum

Hệ phân tán trong nước của acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp có khối lượng phân tử tương đối trung bình khoảng 250 000. Tỷ lệ nhóm carboxylic so với nhóm ester khoảng 1 : 1. Có thể có chứa chất diện hoạt phù hợp như natri dodecyl sulfat và polysorbat 80.

Hàm lượng
Từ 46,0 % đến 50,6 % đơn vị acid methacrylic (tính theo khối lượng còn lại sau khi bốc hơi dung môi).

Tính chất
Chất lỏng hơi sánh, đục, màu trắng hay gần như trắng.
Trộn lẫn được với nước. Khi thêm các dung môi như aceton, ethanol tuyệt đối hay 2-propanol, tủa tạo thành và tan khi tiếp tục thêm dư dung môi. Trộn lẫn được với dung dịch natri hydroxyd 4 %.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của dịch phân tán 30 % của acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1).
B. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu về giới hạn Hàm lượng.

Độ nhớt
Không được quá 15 mPa·s (Phụ lục 6.3, phương pháp III). Xác định độ nhớt ở 20 °C sử dụng nhớt kế quay với tốc độ trượt là 50 s^{-1}.

Tính chất của phim
Nhỏ 1 ml chế phẩm lên một đĩa thủy tinh và để khô. Một lớp phim giòn, trong suốt được hình thành.

Tạp chất lạ
Lọc 100 g chế phẩm qua rây số 90 bằng thép không gỉ có khối lượng xác định. Rửa bằng *nước* đến khi dịch rửa trong rồi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C. Khối lượng cắn còn lại không quá 1,00 g.

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

Cắn sau khi bay hơi
Sấy 1,000 g chế phẩm ở 110 °C trong 5 h (Phụ lục 9.6), khối lượng cắn còn lại từ 0,285 g đến 0,315 g.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,000 g chế phẩm.

Giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6)
Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không được quá 10^3 CFU/g.
Tổng số nấm: Không được quá 10^2 CFU/g.

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

Bảo quản
Tránh để đông đặc.

Công dụng
Tá dược.

CÁC ĐẶC TÍNH LIÊN QUAN ĐẾN CÔNG DỤNG CỦA NGUYÊN LIỆU

Các đặc tính sau có thể liên quan đến việc sử dụng dịch phân tán 30 % của acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1) làm tá dược bao kháng dịch vị:

Độ nhớt
Xem phần trên.

Tính chất của phim
Xem phần trên.

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

ACID METHACRYLIC VÀ METHYL METHACRYLAT ĐỒNG TRÙNG HỢP (1 : 1)
Acidi methacrylici et methylis methacrylatis polymerisatum (1 : 1)

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

Hàm lượng
Từ 46,0 % đến 50,6 % đơn vị acid methacrylic (tính theo chế phẩm đã làm khô).

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

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

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

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

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

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

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,000 g chế phẩm.

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

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

Công dụng
Tá dược.

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

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

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

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

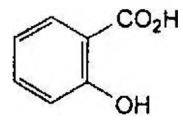
Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *nước*, thêm 0,25 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đến khi màu hồng xuất hiện. Song song tiến hành mẫu trắng.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 12,31 mg $C_6H_5NO_2$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin nhóm B.

Chế phẩm
Viên nén.

ACID SALICYLIC
Acidum salicylicum



$C_7H_6O_3$ P.t.l: 138,1

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

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

Định tính
Chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acid salicylic chuẩn.
B. Điểm chảy: 158 °C đến 161 °C (Phụ lục 6.7).
C. Hòa tan khoảng 30 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M*, trung hòa nếu cần và pha loãng thành 20 ml bằng *nước*. 1 ml dung dịch thu được cho phản ứng (A) của ion salicylat (Phụ lục 8.1).

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

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acid acetic băng - methanol - nước* (1 : 40 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg phenol chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg tạp chất chuẩn B của acid salicylic (acid 4-hydroxyisophtalic) trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 50 mg *acid 4-hydroxybenzoic (TT)* trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng hỗn hợp của 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1), 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2), 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (6): Pha loãng hỗn hợp của 0,1 ml dung dịch đối chiếu (1), 0,1 ml dung dịch đối chiếu (2), 0,1 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 10,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi *octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.
Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Thời gian lưu tương đối so với phenol của acid 4-hydroxybenzoic khoảng 0,70, của acid 4-hydroxyisophtalic khoảng 0,90.
Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) bằng ít nhất 70 % chiều cao của toàn thang sắc ký đồ. Thử nghiệm này không có giá trị khi mà pic thứ ba trong sắc ký đồ của dung dịch (5) không tương ứng với pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) và độ phân giải của pic tương ứng acid 4-hydroxyisophtalic với pic tương ứng phenol là nhỏ hơn 1. Nếu điều kiện về độ phân giải này không đạt, có thể điều chỉnh lượng acid acetic trong pha động.
Giới hạn: Diện tích của những pic tương ứng với acid 4-hydroxybenzoic, với acid 4-hydroxyisophtalic, và phenol trong sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích của những pic tương ứng lần lượt như trên trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (0,1 % của acid

4-hydroxybenzoic; 0,05 % của acid 4-hydroxyisophtalic và 0,02 % của phenol).
Diện tích của bất cứ pic nào, ngoại trừ pic chính và những pic tương ứng với acid 4-hydroxybenzoic, với acid 4-hydroxyisophtalic và phenol trong sắc ký đồ của dung dịch thử thì không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng với acid 4-hydroxyisophtalic trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (0,05 %).
Tổng diện tích các pic phụ trong sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn hai lần diện tích của pic tương ứng với acid 4-hydroxybenzoic trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (0,2 %).
Bỏ qua tất cả các pic mà diện tích nhỏ hơn 0,01 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6).

Clorid
Không được quá 100 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 50 ml *nước* đun sôi, để nguội và lọc.
Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,020 % (Phụ lục 9.4.14).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 5 ml *dimethylformamid (TT)* và thêm 4 ml *nước*. Trộn đều. Thêm 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,5 ml *dung dịch bari clorid 25 %*. Sau 15 min, dung dịch thu được không được đục hơn dung dịch đối chiếu được chuẩn bị như sau: Thêm 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, 0,5 ml *dung dịch bari clorid 25 %*, 3 ml *nước* và 5 ml *dimethylformamid (TT)* vào 2 ml *dung dịch sulfat mẫu 100 phần triệu SO_4 (TT)*, trộn đều.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 15 ml *ethanol 96 % (TT)*, sau đó thêm 5 ml *nước*. Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 2. Dùng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* pha loãng bằng hỗn hợp *ethanol 96 % - nước* (3 : 1) để được dung dịch chì mẫu 2 phần triệu dùng chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; áp suất giảm; silica gel).

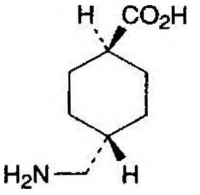
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 2,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan khoảng 0,120 g chế phẩm trong 30 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 20 ml *nước* và 0,1 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho đến khi màu chuyển từ vàng sang đỏ tím.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 13,81 mg $C_7H_6O_3$.

Bảo quản
Trong chai lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc tróc lớp sừng da, chống bài tiết bã nhờn, trị vảy nến, chất ăn da.

ACID TRANEXAMIC
Acidum tranexamicum



$C_8H_{15}NO_2$ P.t.l.: 157,2

Acid tranexamic là acid *trans*-4-(aminomethyl)cyclohexan-carboxylic, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_8H_{15}NO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước và acid acetic băng, thực tế không tan trong aceton và ethanol 96 %.

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

pH
Từ 7,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 11,0 g *natri dihydrophosphat khan (TT)* trong 500 ml *nước*, thêm 5 ml *triethylamin (TT)* và 1,4 g *natri lauryl sulfat (TT)*. Điều chỉnh dung dịch thu được tới pH 2,5 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)* và pha loãng thành 600 ml bằng *nước*. Thêm 400 ml *methanol (TT)* và trộn đều.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg tạp chất C chuẩn của acid tranexamic trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch này, thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) hoặc (25 cm × 6,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Tốc độ dòng: 0,9 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Thời gian chạy sắc ký gấp 3 lần thời gian lưu của acid tranexamic.
Thời gian lưu tương đối so với acid tranexamic (thời gian lưu khoảng 13 min) như sau: Tạp chất C khoảng 1,1; tạp chất D khoảng 1,3; tạp chất B khoảng 1,5; tạp chất A khoảng 2,1.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic của acid tranexamic và tạp chất C ít nhất là 2,0.
Giới hạn:
Khi tính hàm lượng các tạp chất, nhân diện tích pic của các tạp chất với hệ số hiệu chỉnh tương ứng như sau: Tạp chất B là 1,2, tạp chất C là 0,005, tạp chất D là 0,006.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn 0,2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,1 %). Diện tích của pic tương ứng với tạp chất B đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 0,4 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Diện tích pic của từng tạp chất khác không được lớn hơn 0,2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,1 %). Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất khác không được lớn hơn 0,4 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,2 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,025 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid *trans,trans*-4,4'-(iminodimethylen)di(cyclohexan carboxylic),
Tạp chất B: Acid *cis*-4-(aminomethyl)cyclohexan carboxylic,
Tạp chất C: Acid (*RS*)-4-(aminomethyl)cyclohex-1-en carboxylic,
Tạp chất D: Acid 4-aminomethylbenzoic.

Các hợp chất halogenid
Không được quá 140 phần triệu, tính theo clorid (Phụ lục 9.4.5).
Hòa tan 1,2 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Lấy 15 ml dung dịch để thử.

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

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C; 2 h).

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

Định lượng
Hòa tan 0,140 g chế phẩm trong 20 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 15,72 mg $C_8H_{15}NO_2$.

Loại thuốc
Chống tiêu fibrin; thuốc cầm máu.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

NANG ACID TRANEXAMIC
Capsulae Acidi tranexamici

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

Hàm lượng acid tranexamic, $C_8H_{15}NO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột thuốc trong nang tương đương với khoảng 0,1 g acid tranexamic, thêm 10 ml *nước*, lắc kỹ, lọc. Thêm 1 ml *dung dịch ninhydrin 2 % (TT)* và đun nóng trên cách thủy trong 3 min, xuất hiện màu tím đậm.
B. Trong phần Định lượng, pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic acid tranexamic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 15 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với các điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với *nước* để được dung dịch có nồng độ acid tranexamic khoảng 0,56 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 56 mg acid tranexamic chuẩn, hòa tan trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 100,0 ml.

Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử với thể tích tiêm là 50 µl.
Tính hàm lượng acid tranexamic hòa tan trong mỗi nang dựa vào diện tích pic của acid tranexamic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_{15}NO_2$ của acid tranexamic chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng acid tranexamic, $C_8H_{15}NO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 15 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 11,0 g *natri dihydrophosphat khan (TT)* trong 500 ml *nước*, thêm 5 ml *triethylamin (TT)* và 1,4 g *natri lauryl sulfat (TT)*. Điều chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*, thêm *nước* đến 600 ml và thêm 400 ml *methanol (TT)*, trộn đều. Điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân 50 mg acid tranexamic chuẩn hòa tan trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 25,0 ml.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg acid tranexamic vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml *nước*, lắc kỹ và thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Ly tâm lấy lớp trên.
Dung dịch phân giải: Thêm 1 ml dung dịch *acid 4-(aminomethyl)benzoic (TT)* 0,01 % vào 5 ml dung dịch chuẩn và thêm *nước* thành 50 ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: Điều chỉnh tốc độ dòng để thời gian lưu của acid tranexamic khoảng 16 min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, lần lượt acid tranexamic và acid 4-(aminomethyl)benzoic được rửa giải và độ phân giải giữa 2 pic không nhỏ hơn 3. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic acid tranexamic không được lớn hơn 1,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng acid tranexamic có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic của acid tranexamic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_{15}NO_2$ chuẩn.

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

Loại thuốc
Thuốc cầm máu.

Hàm lượng thường dùng
500 mg; 1 000 mg.

VIÊN NÉN ACID TRANEXAMIC
Tabellae Acidi tranexamici

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

Hàm lượng acid tranexamic, $C_8H_{15}NO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột viên tương đương với khoảng 0,1 g acid tranexamic, thêm 10 ml *nước*, lắc kỹ, lọc. Thêm 1 ml *dung dịch ninhydrin 2 % (TT)* và đun nóng trên cách thủy trong 3 min, xuất hiện màu tím đậm.
B. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic acid tranexamic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 15 min.
Cách tiến hành:
Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng với các điều kiện sắc ký như mô tả ở mục Định lượng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với *nước* để được dung dịch có nồng độ acid tranexamic khoảng 0,56 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 56 mg acid tranexamic chuẩn hòa tan trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 100,0 ml.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử với thể tích tiêm là 50 µl.
Tính hàm lượng acid tranexamic hòa tan trong mỗi viên dựa vào diện tích pic của acid tranexamic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_{15}NO_2$ trong acid tranexamic chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng acid tranexamic, $C_8H_{15}NO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 15 min.

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

Pha động: Hòa tan 11,0 g *natri dihydrophosphat khan (TT)* trong 500 ml *nước*, thêm 5 ml *triethylamin (TT)* và 1,4 g *natri lauryl sulfat (TT)*. Điều chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*, thêm *nước* đến 600 ml và thêm 400 ml *methanol (TT)*, trộn đều. Điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg acid tranexamic chuẩn, hòa tan trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 25,0 ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg acid tranexamic vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml *nước*, lắc kỹ và thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Ly tâm lấy lớp trên.

Dung dịch phân giải: Thêm 1 ml dung dịch *acid 4-(aminomethyl)benzoic (TT)* 0,01 % vào 5 ml dung dịch chuẩn và thêm *nước* thành 50 ml.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 35 °C.

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

Tốc độ dòng: Điều chỉnh tốc độ dòng để thời gian lưu của acid tranexamic khoảng 16 min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, lần lượt acid tranexamic và acid 4-(aminomethyl)benzoic được rửa giải và độ phân giải giữa 2 pic không nhỏ hơn 3. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic acid tranexamic không được lớn hơn 1,0 %.

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

Tính hàm lượng acid tranexamic có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic của acid tranexamic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_{15}NO_2$ trong acid tranexamic chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Thuốc cầm máu.

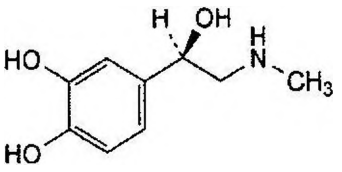
Hàm lượng thường dùng

500 mg; 1000 mg.

ADRENALIN

Adrenalinum

Epinephrin



$C_9H_{13}NO_3$ P.t.l: 183,2

Adrenalin là 4-[(1*R*)-1-hydroxy-2-(methylamino)ethyl] benzen-1,2-diol, phải chứa từ 99.0 % đến 101,0 % $C_9H_{13}NO_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Bị sẫm màu khi tiếp xúc với không khí và ánh sáng.

Thực tế không tan trong nước, ethanol 96 % và methylen clorid. Tan trong acid hydrocloric.

Định tính

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

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong dung dịch *acid hydrocloric (TT)* 25,75 g/l và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Đo ngay sau khi pha.

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

Góc quay cực riêng

Từ -50° đến -54°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tránh ánh sáng khi chuẩn bị các dung dịch.

Pha động A: *Acetonitril (TT_1) - hỗn hợp dung môi A* (5 : 95).

Pha động B: *Acetonitril (TT_1) - hỗn hợp dung môi A* (45 : 55).

Hỗn hợp dung môi A: Hòa tan 5,0 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 2,6 g *natri octansulfonat (TT)* trong *nước dùng cho sắc ký (TT)* (thường cần khuấy ít nhất 30 min để hòa tan hoàn toàn) và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi. Điều chỉnh đến pH 2,8 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Hỗn hợp dung môi B: *Acetonitril (TT_1) - hỗn hợp dung môi A* (13 : 87).

Dung dịch mẫu trắng: *Dung dịch acid hydrocloric 0,1 M - hỗn hợp dung môi B* (1 : 9).

Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi B.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi B. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi B.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 1,5 mg noradrenalin tartrat chuẩn (tạp chất B) và 1,5 mg *adrenalon hydroclorid (TT)* (tạp chất C) trong hỗn hợp dung môi B, thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100 ml bằng hỗn hợp dung môi B.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan hỗn hợp tạp chất chuẩn của adrenalin (chứa tạp chất D và E) có trong 1 lọ chuẩn trong 1,0 ml dung dịch mẫu trắng.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 4 mg tạp chất F chuẩn của adrenalin trong 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 5 ml bằng hỗn hợp dung môi B.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).
Nhiệt độ cột: 50 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	92 → 50	8 → 50
15 - 20	50 → 92	50 → 8
20 - 25	92	8

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo hỗn hợp tạp chất chuẩn của adrenalin và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất D và tạp chất E. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo tạp chất F chuẩn của adrenalin và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất F.
Thời gian lưu tương đối so với adrenalin (thời gian lưu khoảng 4 min): Tạp chất F khoảng 0,2; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất C khoảng 1,3; tạp chất D khoảng 3,3; tạp chất E khoảng 3,7.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của adrenalin ít nhất là 3,0.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: tạp chất D là 0,7; tạp chất E là 0,6.
Tạp chất B, C, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tạp chất D, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tổng diện tích pic tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất B: (1*R*)-2-amino-1-(3,4-dihydroxyphenyl)ethanol (noradrenalin).
Tạp chất C: 1-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(methylamino)ethanon (adrenalon).
Tạp chất D: 4-[(1*R*)-2-(benzylmethylamino)-1-hydroxyethyl] benzen-1,2-diol.
Tạp chất E: 2-(benzylmethylamino)-1-(3,4-dihydroxyphenyl) ethanon.
Tạp chất F: Acid (1*R*)-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(methylamino) ethansulfonic.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; phosphor pentoxyd; áp suất không quá 0,7 kPa; 18 h).

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

Định lượng
Hòa tan khoảng 0,150 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 18,32 mg $C_9H_{13}NO_3$

Bảo quản
Adrenalin phải được bảo quản trong bao bì kín, đóng đầy khí nitơ và tránh ánh sáng.

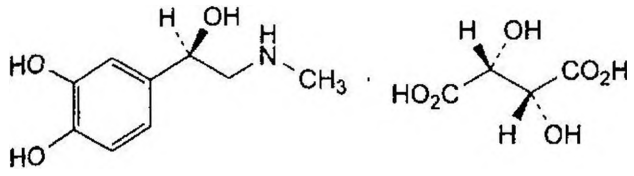
Loại thuốc
Chất chủ vận adrenoceptor, kích thích giao cảm.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt.

ADRENALIN ACID TARTRAT

Adrenalinum acidum tartras

Adrenalin tartrat



$C_9H_{13}NO_3.C_4H_6O_6$ P.t.l: 333,3

Adrenalin acid tartrat là (1*R*)-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(methylamino)ethanol hydrogen (2*R*,3*R*)-2,3-dihydroxy butandioat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_9H_{13}NO_3.C_4H_6O_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc trắng hơi xám. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa adrenalin base thu được từ phép thử B phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của adrenalin base thu được khi cho 50 mg adrenalin tartrat chuẩn hòa tan trong 5 ml *dung dịch natri metabisulfit 0,5 %*, để hỗn hợp ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 min rồi lọc qua phễu thủy tinh xốp. Chuẩn bị mẫu đo dưới dạng đĩa nén.

B. Hòa tan 5 g chế phẩm trong 50 ml *dung dịch natri metabisulfit 0,5 %*, thêm *amoniac (TT)* để kiềm hóa. Để hỗn hợp ở nhiệt độ phòng ít nhất 15 min rồi lọc. Dịch lọc dùng để thử phản ứng C. Rửa tủa 3 lần, mỗi lần với 10 ml *methanol (TT)*, sấy khô ở 80 °C. Góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4) của tủa (adrenalin base) từ -50° đến -53,5°. Dùng dung dịch 2 % tủa trong *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)* để đo.

C. 0,2 ml dịch lọc trong phép thử B phải cho phản ứng (B) của tartrat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Kiểm tra ngay độ trong và màu sắc của dung dịch thu được.

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

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động A: Acetonitril (TT_1) - hỗn hợp dung môi A (5 : 95).

Pha động B: Acetonitril (TT_1) - hỗn hợp dung môi A (45 : 55).

Hỗn hợp dung môi A: Hòa tan 5,0 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 2,6 g *natri octansulfonat (TT)* vào *nước dùng cho sắc ký (TT)* (thường cần khuấy ít nhất 30 min để hòa tan hoàn toàn), pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi. Điều chỉnh đến pH 2,8 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Hỗn hợp dung môi B: Acetonitril (TT_1) - hỗn hợp dung môi A (130 : 870).

Dung dịch mẫu trắng: Dung dịch acid hydrocloric 0,1 M - hỗn hợp dung môi B (1 : 9).

Dung dịch thử: Hòa tan 75 mg chế phẩm bằng 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng dung dịch thu được thành 50 ml bằng hỗn hợp dung môi B.

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

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 1,5 mg noradrenalin tartrat chuẩn (tạp chất B) và 1,5 mg *adrenalon hydroclorid (TT)* (tạp chất C) bằng hỗn hợp dung môi B, thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi B.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan hỗn hợp tạp chất chuẩn của adrenalin (chứa tạp chất D và E) có trong 1 lọ chuẩn trong 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và 0,9 ml hỗn hợp dung môi B.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 7,5 mg adrenalin tartrat có chứa tạp chất A chuẩn bằng 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml bằng hỗn hợp dung môi B.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).

Nhiệt độ cột: 50 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

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

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	92 → 50	8 → 50
15 - 20	50 → 92	50 → 8
20 - 25	92	8

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo hỗn hợp tạp chất chuẩn của adrenalin và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất D và tạp chất E. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo adrenalin tartrat có chứa tạp chất A chuẩn và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất A.

Thời gian lưu tương đối so với adrenalin (thời gian lưu khoảng 4 min): Tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất C khoảng 1,3; tạp chất A khoảng 3,2; tạp chất D khoảng 3,3; tạp chất E khoảng 3,7.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của adrenalin ít nhất là 3,0.

Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: tạp chất D là 0,7; tạp chất E là 0,6.
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Tạp chất B, C: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tạp chất D, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 6 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,6 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Chưa xác định cấu trúc.
Tạp chất B: (1*R*)-2-amino-1-(3,4-dihydroxyphenyl)ethanol (noradrenalin).
Tạp chất C: 1-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(methylamino)ethanon (adrenalon).
Tạp chất D: 4-[(1*R*)-2-(benzylmethylamino)-1-hydroxyethyl) benzen-1,2-diol.
Tạp chất E: 2-(benzylmethylamino)-1-(3,4-dihydroxyphenyl) ethanon.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; trong chân không; 18 h).

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

Định lượng
Hòa tan khoảng 0,300 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*, đun nóng nếu cần và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* đến màu xanh. Dùng 0,1 ml *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 33,33 mg $C_{13}H_{19}NO_9$.

Bảo quản
Trong lọ kín hoặc ống hàn kín, đóng trong điều kiện chân không hoặc nạp đầy khí trơ, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chủ vận adrenoceptor, kích thích giao cảm.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM ADRENALIN
Injectio Adrenalini
Thuốc tiêm epinephrin

Là dung dịch vô khuẩn đẳng trương của adrenalin tartrat 0,18 % trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng adrenalin, $C_9H_{13}NO_3$, từ 0,09 g đến 0,11 g trong 100 ml chế phẩm.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm từng giọt *dung dịch sắt (III) clorid 0,25 % (TT)* đến khi màu xanh lục xuất hiện. Thêm từ từ *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)*, dung dịch chuyển sang màu xanh lam và sau đó chuyển sang màu đỏ.
C. Lấy 10 ml chế phẩm, thêm 2 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 10 % (TT)*, thêm *dung dịch iod-iodid (TT)* vừa đủ để có màu nâu và thêm từng giọt *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (TT)* để loại bỏ lượng thừa iod, sẽ xuất hiện màu đỏ.

pH
Từ 2,8 đến 3,6 (Phụ lục 6.2).

Noradrenalin
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch chứa 4,0 g *tetramethylamoni hydrosulfat (TT)*, 1,1 g *natri heptansulfonat (TT)* và 2 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (TT)* trong hỗn hợp gồm 950 ml *nước* và 50 ml *methanol (TT)*, điều chỉnh đến pH 3,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*.
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch noradrenalin tartrat 0,0018 % trong pha động.
Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa adrenalin tartrat chuẩn 0,0018 % và noradrenalin tartrat 0,0018 % trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) (cột Nucleosil C18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 205 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Thử nghiệm chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch phân giải không nhỏ hơn 2,0.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với noradrenalin thì không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

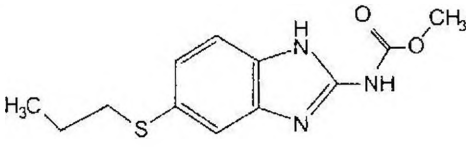
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và điều kiện sắc ký: Như mô tả trong phần "Noradrenalin".
Dung dịch chuẩn: Dung dịch adrenalin tartrat chuẩn 0,02 % trong pha động.
Dung dịch thử: Pha loãng 1 thể tích chế phẩm thành 10 thể tích bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Dung dịch adrenalin tartrat chuẩn 0,02 % và noradrenalin tartrat 0,02 % trong pha động.
Cách tiến hành:
Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch phân giải không nhỏ hơn 2,0.
Tính hàm lượng của adrenalin, $C_9H_{13}NO_3$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_9H_{13}NO_3$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kích thích giao cảm.

Hàm lượng thường dùng
1 mg/ml.

ALBENDAZOL
Albendazolum



$C_{12}H_{15}N_3O_2S$ P.t.l: 265,3

Albendazol là methyl [5-(propylsulfanyl)-1*H*-benzimidazol-2-yl] carbamat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu trắng hay hơi vàng.
Dễ tan trong acid formic khan và dimethylformamid, hơi tan trong methanol và cloroform, rất khó tan trong methylen clorid, thực tế không tan trong nước và ethanol 96 %.

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong hỗn hợp *acid formic khan - methylen clorid* (1 : 9) để được 10 ml. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch amoni dihydrophosphat 0,167 % - methanol (300 : 700).
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong 5 ml *methanol (TT)* có chứa 1 % (tt/tt) *acid sulfuric (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 10 ml *methanol (TT)* có chứa 1 % (tt/tt) *acid sulfuric (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 0,5 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm và 50 mg oxybendazol chuẩn trong 5 ml *methanol (TT)* có chứa 1 % (tt/tt) *acid sulfuric (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm), kích thước lỗ xốp là 10 nm, hàm lượng carbon khoảng 19 %.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 0,7 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ ít nhất bằng 50 % thang đo.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa các pic tương ứng với albendazol và oxybendazol ít nhất là 3,0.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian bằng 1,5 lần thời gian lưu của albendazol.
Thời gian lưu tương đối so với albendazol: Tạp chất D khoảng 0,40; tạp chất B và C khoảng 0,43; tạp chất E khoảng 0,47; tạp chất F khoảng 0,57; tạp chất A khoảng 0,80.
Giới hạn: Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử:
Diện tích của bất kỳ pic phụ nào, ngoài pic chính, không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,75 %).
Tổng diện tích của các pic phụ không lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1,5 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.
Ghi chú:
Tạp chất A: 5-(propylsulphanyl)-1*H*-benzimidazol-2-amin.
Tạp chất B: methyl [5-(propylsulphinyl)-1*H*-benzimi-dazol-2-yl]carbamat.
Tạp chất C: methyl [5-(propylsulphonyl)-1*H*-benzimi-dazol-2-yl]carbamat.
Tạp chất D: 5-(propylsulphonyl)-1*H*-benzimidazol-2-amin.

Tạp chất E: methyl (1*H*-benzimidazol-2-yl)carbamat.
Tạp chất F: methyl [5-(methylsulphanyl)-1*H*-benzimi-dazol-2-yl]carbamat.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 4 h).

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

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 3 ml *acid formic khan (TT)* và thêm 40 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Không để nhiệt độ cao trong khi chuẩn độ, lắc thật kỹ và dừng ngay chuẩn độ khi đến điểm kết thúc.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 26,53 mg $C_{12}H_{15}N_3O_2S$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc trị giun sán.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN ALBENDAZOL
Tabellae Albendazoli

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

Hàm lượng albendazol, $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* F_{254}.
Dung môi khai triển: *Cloroform - acid acetic băng - ether* (60 : 10 : 10).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột thuốc đã nghiền mịn chứa khoảng 100 mg albendazol trong 20 ml *acid acetic băng (TT)*. Lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg albendazol chuẩn trong 5 ml *acid acetic băng (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để bay hơi hết dung môi. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có giá trị R_f và màu sắc tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch thử phải cho đỉnh hấp thụ cực đại ở bước sóng 308 ± 1 nm (Phụ lục 4.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Dung dịch methanol acid : Lấy 50 ml *methanol (TT)* cho vào bình định mức 100 ml thêm 2 ml *acid hydrocloric (TT)*, pha loãng vừa đủ với *methanol (TT)* đến vạch.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 90 mg albendazol chuẩn cho vào bình định mức 250 ml, thêm 10 ml *dung dịch methanol acid*, lắc để hoà tan. Pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch và lắc đều. Lấy 5,0 ml dung dịch này cho vào bình định mức 200 ml, pha loãng với *dung dịch natri hydroxyd 0,1M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Cách tiến hành:
Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với dung dịch chuẩn. Đo độ hấp thụ của dung dịch này và dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại khoảng 308 nm và cực tiểu khoảng 350 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm. Dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng.
Tính hàm lượng albendazol, $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, đã hòa tan theo cách tính trong phần Định lượng.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng albendazol, $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

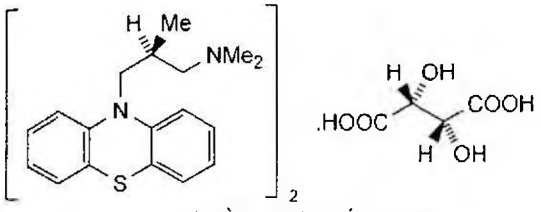
Định lượng
Dung dịch thử: Cân 20 viên và tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột tương ứng với khoảng 0,1 g albendazol vào bình định mức 250 ml, thêm 150 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M trong methanol (TT)*, lắc cho tan hoàn toàn. Sau đó thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M trong methanol (TT)* vừa đủ đến vạch. Lắc đều, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc cho vào bình định mức 250 ml, pha loãng với *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Tiến hành như với dung dịch thử, thay bột viên bằng 100 mg albendazol chuẩn.
Đo độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại khoảng 308 nm và cực tiểu khoảng 350 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm. Dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ dựa theo hàm lượng của albendazol chuẩn và tỷ số của hiệu số độ hấp thụ ở 2 bước sóng cực đại, cực tiểu của dung dịch thử so với dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc trị giun sán phổ rộng.

Hàm lượng thường dùng
200 mg, 400 mg.

ALIMEMAZIN TARTRAT
Alimemazini tartras



và đồng phân đối quang

$(C_{18}H_{22}N_2S)_2.C_4H_6O_6$ P.t.l: 747,0

Alimemazin tartrat là (*RS*)-dimethyl (2-methyl-3-phenothiazin-10-ylpropyl)amin (2*R*,3*R*)-tartrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $(C_{18}H_{22}N_2S)_2.C_4H_6O_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu trắng hay màu kem nhạt. Bị sẫm màu dưới tác động của ánh sáng.
Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong ether.

Định tính
A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *nước* và thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Chiết với 25 ml *ether (TT)*, rửa dịch chiết bằng 5 ml *nước*, làm khan dịch chiết bằng *natri sulfat khan (TT)*, bốc hơi đến khô và hòa tan cắn thu được trong 1 ml *dicloromethan (TT)*.
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của alimemazin chuẩn.
B. Điểm chảy: Từ 159 °C đến 163 °C (Phụ lục 6.7).

pH
pH của dung dịch 2 % phải từ 5,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Không được quá 0,5 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tiến hành tránh ánh sáng.
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Aceton - diethylamin - cyclohexan* (10 : 10 : 80).
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm 2,0 %, pha trong hỗn hợp *methanol - diethylamin* (95 : 5).
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chế phẩm 0,010 %, pha trong hỗn hợp *methanol - diethylamin* (95 : 5).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên vừa được pha. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bỏ qua các vết sắc ký tại vạch xuất phát, bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử ngoài vết chính không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C; áp suất không quá 0,7 kPa).

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

Định lượng
Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6), phương pháp 1).
Dùng 1,00 g chế phẩm để định lượng và *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 37,35 mg $(C_{18}H_{22}N_2S)_2.C_4H_6O_6$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể histamin H_1, thuốc an thần.

Chế phẩm
Viên nén, dung dịch uống dùng cho trẻ em.

SIRÔ ALIMEMAZIN
Sirupi Alimemazini

Là sirô chứa alimemazin tartrat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Sirô thuốc" (Phụ lục 1.4) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng alimemazin tartrat, $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O_6$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng, các dung dịch dùng ngay sau khi pha.
Bản mỏng, dung môi khai triển, hỗn hợp dung môi và *cách tiến hành* như mô tả ở mục Tạp chất liên quan.
Dung dịch thử: Pha loãng 20 lần dung dịch thử của mục Tạp chất liên quan bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg alimemazin tartrat chuẩn trong 15 ml *nước* và thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, trộn đều. Chiết 2 lần, mỗi lần với 15 ml *cloroform (TT)*, gộp các dịch chiết cloroform và loại nước bằng *natri sulfat khan (TT)*. Bốc hơi dịch chiết cloroform

đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 20 ml hỗn hợp dung môi.
Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho một vết chính tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, hình dạng và kích thước.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng, các dung dịch dùng ngay sau khi pha.
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Aceton - diethylamin - cyclohexan* (10 : 10 : 80).
Hỗn hợp dung môi: *Methanol - diethylamin* (95 : 5).
Dung dịch thử : Pha loãng một lượng sirô, tương ứng với khoảng 20 mg alimemazin tartrat, với 15 ml *nước* và thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, trộn đều. Chiết 2 lần, mỗi lần với 15 ml *cloroform (TT)*, gộp các dịch chiết cloroform và loại nước bằng *natri sulfat khan (TT)*. Bốc hơi dịch chiết cloroform đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 1 ml hỗn hợp dung môi
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 50 lần dung dịch thử bằng hỗn hợp dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2,0 %). Bỏ qua bất kỳ vết nào tại điểm chấm sắc ký.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: Dung dịch *natri heptansulfonat (TT)* 0,005 M trong hỗn hợp *methanol - nước - dung dịch acid acetic 6 M* (65 : 34 : 1). Điều chỉnh tỷ lệ các thành phần dung môi nếu cần.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng sirô, tương ứng với khoảng 5 mg alimemazin tartrat, vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch alimemazin tartrat chuẩn 0,005 % trong pha động (0,05 mg/ml). Lọc qua màng lọc 0,45 mm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, thừa số dung lượng *k'* phải từ 2,0 đến 5,0; số đĩa lý thuyết không nhỏ hơn 1200 và hệ số đối xứng tính trên pic alimemazin tartrat không được lớn hơn 3,5. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic alimemazin tartrat từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt các dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng phần trăm alimemazin tartrat, $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O$, trong chế phẩm so với lượng ghi trên nhãn, dựa theo diện tích pic alimemazin tartrat trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, khối lượng riêng của sirô (g/ml) và hàm lượng $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O$ đã biết của alimemazin tartrat chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín. Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng histamin H_1; thuốc an thần.

Hàm lượng thường dùng
7,5 mg/5 ml và 30 mg/5 ml.

VIÊN NÉN ALIMEMAZIN
Tabellea Alimemazini
Viên nén trimeprazin

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

Hàm lượng alimemazin tartrat, $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O_6$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Thêm 10 ml *nước* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* vào một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 40 mg alimemazin tartrat. Lắc, chiết với 15 ml *ether (TT)*. Rửa lớp ether với 5 ml *nước*. Loại nước bằng *natri sulfat khan (TT)*, bốc hơi ether đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 0,4 ml *dicloromethan (TT)*. Phổ hấp thụ hồng ngoại của dung dịch dicloromethan thu được (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của alimemazin.
B. Thêm 1 ml hỗn hợp đồng thể tích của *formaldehyd (TT)* và *acid sulfuric (TT)* vào một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1 mg alimemazin tartrat. Màu đỏ tía xuất hiện.

Độ hòa tan
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT).*
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, hút dịch hòa tan, lọc. Pha loãng nếu cần với môi trường hòa tan. Đo độ hấp thụ của dung dịch thử ở bước sóng cực đại khoảng 251 nm (Phụ lục 4.1), sử dụng cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan, so sánh với dung dịch chuẩn alimemazin tartrat có cùng nồng độ pha trong môi trường hòa tan.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng alimemazin tartrat so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}
Dung môi khai triển: Aceton - diethylamin - cyclohexan (10 : 10 : 80).
Dung dịch thử: Chiết một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 0,1 g alimemazin tartrat với 10 ml hỗn hợp dung môi *methanol - diethylamin* (95 : 5), lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng dung dịch (1) thành 200 lần với cùng hỗn hợp dung môi trên.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên (mới pha). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Bỏ qua bất kỳ vết nào còn nằm tại điểm chấm sắc ký.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch *natri heptansulfonat (TT)* 0,005 M trong hỗn hợp *methanol - nước - dung dịch acid acetic 6 M* (65 : 34 : 1) điều chỉnh tỷ lệ thành phần dung môi nếu cần.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 5 mg alimemazin tartrat, cho vào bình định mức 100 ml, hòa tan trong pha động và thêm pha động đến vừa đủ. Lắc đều và lọc.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch alimemazin tartrat chuẩn 0,005 % trong pha động (0,05 mg/ml).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic alimemazin không được lớn hơn 3,5 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic alimemazin từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 1,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt các dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng phần trăm alimemazin tartrat, $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O$, trong chế phẩm dựa theo diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O$ của alimemazin tartrat chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng histamin H_1; thuốc an thần.

Hàm lượng thường dùng
5 mg.

ALOPURINOL
Allopurinolum

$C_5H_4N_4O$ P.t.l: 136,1

Alopurinol là 1,5-dihydro-4*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-4-on, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_5H_4N_4O$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng hay gần như trắng.
Rất khó tan trong nước và trong ethanol 96 %, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của alopurinol chuẩn.
B. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1). Dung dịch thu được phải cho một cực đại hấp thụ ở bước sóng 250 nm và một cực tiểu hấp thụ ở bước sóng 231 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở bước sóng 231 nm và độ hấp thụ ở bước sóng 250 nm phải từ 0,52 đến 0,62.
C. Hòa tan 0.3 g chế phẩm trong 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và thêm 50 ml *nước*. Thêm từ từ,

vừa thêm vừa lắc 5 ml *dung dịch bạc nitrat 4,25 % (TT)*. Xuất hiện tủa trắng, tủa này không tan khi cho thêm 5 ml *amoniac (TT)*.

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

Bản mỏng: *Silica gel* F_{254}.

Dung môi khai triển: *Ethanol - dicloromethan* (40 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *amoniac (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg alopurinol chuẩn trong *amoniac (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và kích thước.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Các dung dịch được pha trước khi dùng. Bảo quản và tiêm mẫu ở 8 °C, sử dụng thiết bị tiêm mẫu tự động.

Pha động: *Dung dịch kali dihydrophosphat 0,125 %.*

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng ngay thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng ngay thành 250,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của alopurinol; 5,0 mg tạp chất B chuẩn của alopurinol và 5,0 mg tạp chất C chuẩn của alopurinol trong 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng ngay thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20,0 mg alopurinol chuẩn trong 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng ngay thành 250,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,4 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của alopurinol.

Các chất sẽ rửa giải theo thứ tự: Tạp chất A, tạp chất B, tạp chất C và alopurinol.

Thời gian lưu của alopurinol khoảng 10 min.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của tạp chất C ít nhất là 1,1.

Giới hạn:

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

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

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

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

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất (trừ pic của tạp chất A, B và C) không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

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

Ghi chú:

Tạp chất A: 5-amino-1*H*-pyrazol-4-carboxamid.

Tạp chất B: 5-(formylamino)-1*H*-pyrazol-4-carboxamid.

Tạp chất C: 5-(4*H*-1,2,4-triazol-4-yl)-1*H*-pyrazol-4-carboxamid.

Tạp chất D: Ethyl 5-amino-1*H*-pyrazol-4-carboxylat.

Tạp chất E: Ethyl 5-(formylamino)-1*H*-pyrazol-4-carboxylat.

Tạp chất F: Diazan (hydrazin).

Tạp chất D và E

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Các dung dịch được pha trước khi dùng. Bảo quản và tiêm mẫu ở 8 °C, sửa dụng thiết bị tiêm mẫu tự động.

Pha động: *Methanol - dung dịch A* (10 : 90).

Dung dịch A: Dung dịch *kali dihydrophosphat* 0,125 %.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng ngay thành 100,0 ml bằng dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5,0 mg tạp chất D chuẩn của alopurinol và 5,0 mg tạp chất E chuẩn của alopurinol trong 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng ngay thành 100,0 ml bằng dung dịch A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung dịch A.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (5 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của tạp chất E.

Thời gian lưu của tạp chất D khoảng 3,6 min; tạp chất E khoảng 4,5 min.

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

Giới hạn:
Tạp chất D: Diện tích pic tạp chất D không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).
Tạp chất E: Diện tích pic tạp chất E không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).

Tạp chất F
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Với những điều kiện dưới đây, bất kỳ hydrazin nào có trong mẫu thử cũng phản ứng với benzaldehyd để tạo thành benzaldehyd azin.
Pha động: *2-propanol - hexan* (5 : 95).
Hỗn hợp dung môi: *Methanol - dung dịch natri hydroxyd loãng* (50 : 50).
Dung dịch A: Hòa tan 2,0 g *benzaldehyd (TT)* vào hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Chuẩn bị dung dịch trước khi dùng.
Dung dịch thử: Hòa tan 250,0 mg chế phẩm vào 5,0 ml hỗn hợp dung môi, thêm 4 ml dung dịch A, lắc đều và để yên ở nhiệt độ phòng trong 2,5 h. Thêm 5,0 ml *hexan (TT)* và lắc trong 1 min. Để yên cho tách lớp và lấy lớp phía trên.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10,0 mg *hydrazin sulfat (TT)* trong hỗn hợp dung môi bằng siêu âm trong 2 min và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được, thêm 4,0 ml dung dịch A, trộn đều rồi để yên 2,5 h ở nhiệt độ phòng. Thêm 5,0 ml *hexan (TT)* và lắc trong 1 min. Để yên cho tách lớp và lấy lớp phía trên.
Dung dịch mẫu trắng: Lấy 5,0 ml hỗn hợp dung môi, thêm 4,0 ml dung dịch A trộn đều rồi để yên 2,5 h ở nhiệt độ phòng. Thêm 5,0 ml *hexan (TT)* và lắc trong 1 min. Để yên cho tách lớp và lấy lớp phía trên.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *cyanosilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm), kích thước lỗ xốp 10 nm.
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 310 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch mẫu trắng, dung dịch đối chiếu và dung dịch thử.
Thời gian lưu tương đối so với benzaldehyd (thời gian lưu khoảng 2,8 min): Benzaldehyd azin khoảng 0,8.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa pic của benzaldehyd azin với pic của benzaldehyd ít nhất là 2,0; tỉ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 20 đối với pic của benzaldehyd azin.
Giới hạn:
Tạp chất F: Diện tích pic của benzaldehyd azin trên sắc ký đồ dung dịch thử không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (10 phần triệu hydrazin sulfat tương ứng với 2,5 phần triệu hydrazin).

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

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

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

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (3).
Tính hàm lượng alopurinol, $C_5H_4N_4O$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng $C_5H_4N_4O$ của alopurinol chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Điều trị bệnh gút và tăng acid uric máu.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN ALOPURINOL
Tabellae Allopurinoli

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

Hàm lượng alopurinol, $C_5H_4N_4O$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương đương với 50 mg alopurinol, thêm 10 ml dung *dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, nghiền trộn kỹ, lọc. Acid hóa dịch lọc bằng *dung dịch acid acetic 1 M (TT)* và để yên 10 min đến 15 min. Lọc lấy tủa, rửa tủa bằng 3 ml *ethanol (TT)* sau đó bằng 4 ml *ether (TT)*. Để khô ngoài không khí 15 min sau đó sấy ở 105 °C trong 3 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại của cắn

thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của alopurinol chuẩn.

B. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm có một cực đại ở bước sóng khoảng 250 nm.

C. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g alopurinol với 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1,25 M (TT)*, thêm 3 ml *dung dịch phosphomolybdotungstic (TT)* và 5 ml *dung dịch natri carbonat 20 % (TT)*, màu xanh xám sẽ xuất hiện.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan và lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* để được dung dịch thử có nồng độ tương đương với dung dịch chuẩn.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 40 mg alopurinol chuẩn, chuyển vào bình định mức 200 ml, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và lắc siêu âm 2 min, tiếp tục lắc cơ học trong khoảng 10 min và thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* đến vừa đủ thể tích. Pha loãng dung dịch thu được với *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ alopurinol khoảng 8 µg/ml.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng alopurinol, $C_5H_4N_4O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng

Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g alopurinol và chuyển vào bình định mức 250 ml, thêm 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M (TT)*, lắc trong 20 min, thêm 80 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lắc trong 10 min, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến định mức, lắc đều, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 250,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 100 mg alopurinol chuẩn, chuyển vào bình định mức 250 ml, thêm 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M (TT)*, lắc đều để hòa tan và thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến định mức. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 250,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch thu được ở bước sóng 250 nm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng của alopurinol, $C_5H_4N_4O$, dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_5H_4N_4O$ trong alopurinol chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

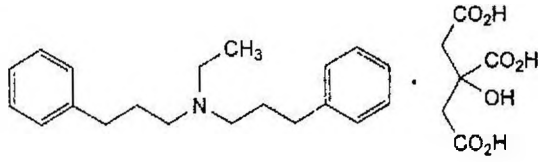
Dự phòng gút và tăng acid uric máu.

Hàm lượng thường dùng

50 mg; 100 mg; 300 mg.

ALVERIN CITRAT

Alverin citratum



$C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$ P.t.l: 473,6

Alverin citrat là *N*-ethyl-3-phenyl-*N*-(3-phenylpropyl) propan-1-amin dihydro 2-hydroxypropan-1,2,3-tricarboxylat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, chảy ở khoảng 104 °C. Khó tan trong nước và methylen clorid, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính

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

pH

Dung dịch chế phẩm 0,5 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* phải có pH từ 3,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Dung dịch thử: Hoà tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi, thêm 2 ml *amoniac (TT)*. Lắc dung dịch thu được 3 lần, mỗi lần với 15 ml *methylen clorid (TT)*. Gộp các lớp dịch ở dưới, lắc với *natri sulfat khan (TT)*, lọc và bốc hơi dịch lọc bằng cất quay ở nhiệt độ không quá 30 °C. Hòa tan cắn thu được bằng *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hoà tan 5 mg tạp chất D chuẩn của alverin (tạp chất D citrat) trong 5 ml *nước*, thêm 1 ml *amoniac (TT)*. Lắc dung dịch thu được 3 lần, mỗi lần với 5 ml *methylen clorid (TT)*. Gộp các lớp dịch ở dưới, lắc với *natri sulfat khan (TT)*, lọc và bốc hơi dịch lọc bằng cất

quay ở nhiệt độ không quá 30 °C. Hòa tan cắn thu được bằng *methylen clorid (TT)*, thêm 0,2 ml dung dịch thử và pha loãng thành 2,0 ml bằng *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *methylen clorid (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan alverin chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất C và E) có trong một lọ chuẩn bằng 1 ml *methylen clorid (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột silica nung chảy, chiều dài 25 m, đường kính 0,32 mm, pha tĩnh *poly(dimethyl)(diphenyl)siloxan* (phim có độ dày 0,45 µm).
Khí mang: Khí heli dùng cho sắc ký.
Tốc độ dòng: 2,2 ml/min.
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 11.
Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 7	120
	7 - 13	120 → 240
	13 - 21	240
	21 - 24	240 → 290
	24 - 39	290
Buồng tiêm		290
Detector		290

Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo alverin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic các tạp chất C và E. Thời gian lưu tương đối so với alverin (thời gian lưu khoảng 16 min): Tạp chất A khoảng 0,28; tạp chất B khoảng 0,29; tạp chất C khoảng 0,46; tạp chất D khoảng 0,97; tạp chất E khoảng 1,7.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất D với pic của alverin ít nhất là 3,0.
Giới hạn:
Tạp chất A, B: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,1 %.
Tạp chất C: Không được quá 0,2 %.
Tạp chất D, E: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,3 %.
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,10 %.
Tổng tất cả các tạp chất không được quá 1,0 %.
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 1-cloro-3-phenylpropan.
Tạp chất B: 3-phenylpropan-1-ol.
Tạp chất C: *N*-ethyl-3-phenylpropan-1-amin.
Tạp chất D: *N*-(3-cyclohexylpropyl)-*N*-ethyl-3-phenylpropan-1-amin.
Tạp chất E: 3-phenyl-*N*,*N*-bis(3-phenylpropyl)propan-1-amin.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Dùng 0,5 g chế phẩm, thử theo phương pháp 7. Dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 80 °C; 2 h).

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

Định lượng
Hòa tan 0,375 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 47,36 mg $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Giãn cơ trơn, giảm co thắt.

Chế phẩm
Thuốc nang.

NANG ALVERIN
Capsulae Alverini

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

Hàm lượng alverin citrat, $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi triển khai: *Cloroform - methanol* (90 : 10).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột thuốc đã nghiền mịn có chứa khoảng 100 mg alverin citrat trong 10 ml *methanol (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch alverin citrat chuẩn 1 % trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng

254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí, kích thước và màu sắc phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phép thử Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng thời gian lưu với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và *điều kiện sắc ký* được thực hiện giống như trong mục Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy khoảng 20 ml dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ một phần dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc này (nếu cần) với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để tạo thành dung dịch có nồng độ khoảng 0,006 % alverin cirat.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch alverin citrat chuẩn 0,006 % trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tính lượng alverin citrat, $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$, hòa tan dựa theo diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$ trong alverin citrat chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng alverin citrat, $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

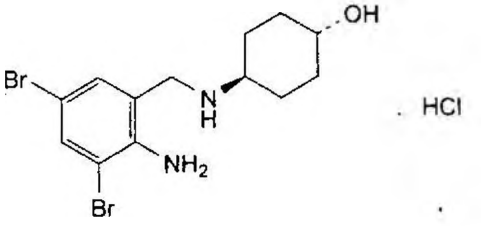
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Dung dịch natri lauryl sulfat 0,01 M* trong hỗn hợp *acetonitril - nước* (55 : 45), điều chỉnh pH đến 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn, trộn đều. Cân một lượng bột viên tương ứng với 0,300 g alverin citrat vào bình định mức 250 ml, thêm 100 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 1 h và thêm *methanol (TT)* đến định mức. Lắc kỹ trong 10 min và lọc (giấy lọc cellulose nitrat 0,45 µm là thích hợp). Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thu được thành 20,0 ml với *nước*.
Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch alverin citrat chuẩn 0,12 % trong *methanol (TT)*. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml với *nước*.
Điều kiện sắc ký :
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi *base-deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Thử nghiệm chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic alverin citrat trong 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$ trong nang dựa theo diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$ trong alverin citrat chuẩn.

Bảo quản
Đựng trong bao bì kín, bảo quản nơi thoáng mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống co thắt cơ trơn.

Hàm lượng thường dùng
40 mg, 60 mg.

AMBROXOL HYDROCLORID
Ambroxoli hydrochloridum



$C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$ P.t.l: 414,6

Ambroxol hydroclorid là *trans*-4-[(2-amino-3,5-dibromo-benzyl)amino]cyclohexanol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay vàng nhạt. Hơi tan trong nước, tan trong methanol, thực tế không tan trong methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ambroxol hydroclorid chuẩn.
B. Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng acid. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml với *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong dải bước sóng từ 200 nm đến 350 nm phải có 2 cực đại hấp thụ ở bước sóng 245 nm và 310 nm. Tỷ số độ hấp thụ cực đại ở

bước sóng 245 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng 310 nm ($A_{245\ nm}/A_{310\ nm}$) từ 3,2 đến 3,4.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - 2-propanol - ethyl acetat - hexan (1 : 10 : 20 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg ambroxol hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 2/3 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ngoài không khí. Kiểm tra bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

D. Hòa tan khoảng 25 mg chế phẩm trong 2,5 ml *nước*, trộn với 1,0 ml *dung dịch amoniac loãng (TT)*, để yên trong 5 min. Lọc và acid hóa dịch lọc bằng *dung dịch acid nitric loãng (TT)*. Dịch lọc phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,75 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 15 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Từ 4,5 đến 6,0 (Phụ lục 6.2)

Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

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

Pha động: Hỗn hợp đồng thể tích của *acetonitril (TT)* với một dung dịch được chuẩn bị như sau: Hòa tan 1,32 g *amoni phosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml với *nước*.

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

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

Dung dịch đối chiếu (2): Để tạo tạp chất B, hòa tan 5 mg chế phẩm trong 0,2 ml *methanol (TT)*, thêm 0,04 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích *formaldehyd (TT)* và 99 thể tích *nước*. Làm nóng ở 60 °C trong 5 min. Làm bay hơi đến khô dưới luồng khí nitrogen. Hòa tan cắn trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0) mm được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 248 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với mẫu trắng, dung dịch đối chiếu (1) và (2), dung dịch thử.

Thời gian chạy sắc ký gấp 3 lần thời gian lưu của ambroxol.

Thời gian lưu tương đối so với ambroxol (thời gian lưu khoảng 9 min) của tạp chất B khoảng 0,6.

Định tính các tạp chất: Dùng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic tạp chất B.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic tạp chất B và ambroxol phải ít nhất bằng 4,0.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, các pic tạp chất nếu có phải đáp ứng giới hạn sau:

Từng tạp chất: Diện tích của từng pic tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

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

Ghi chú

Tạp chất A: (2-amino-3,5-dibromophenyl)methanol.

Tạp chất B: *trans*-4-(6,8-dibromo-1,4-dihydroquinazolin-3(2*H*)-yl) cyclohexanol.

Tạp chất C: *trans*-4-[[(*E*)-2-amino-3,5-dibromobenzyliden]amino] cyclohexanol.

Tạp chất D: *cis*-4-[(2-amino-3,5-dibromobenzyl)amino]cyclo hexanol.

Tạp chất E: 2-amino-3,5-dibromobenzaldehyd.

Kim loại nặng

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

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

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 70 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*. Tiến hành định lượng bằng phương pháp chuẩn độ đo điện

thế (Phụ lục 10.2), dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã tiêu thụ giữa 2 điểm uốn của đường cong chuẩn độ.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 41,46 mg $C_{13}H_{19}Br_2ClN_2O$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc long đờm.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

NANG AMBROXOL HYDROCLORID
Capsulae Ambroxoli hydrochloridi

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

Hàm lượng ambroxol hydroclorid, $C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ambroxol hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong phần Độ hòa tan, phổ thu được có hai cực đại hấp thụ tại bước sóng 244 nm và 308 nm.

Độ hòa tan
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc thu được với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 15 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 244 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng ambroxol hydroclorid hòa tan trong mỗi nang dựa vào độ hấp thụ của dung dịch ambroxol hydroclorid chuẩn được pha trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương nồng độ ambroxol hydroclorid của dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng ambroxol hydroclorid, $C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 100 mg ambroxol hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 70 ml pha động, lắc siêu âm để hòa tan, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử với thời gian gấp đôi thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích các pic phụ (không tính đến pic do dung môi) không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - dung dịch diamoni hydrophosphat 0,01 M được chỉnh đến pH 7.0 bằng acid phosphoric* (50 : 50).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg ambroxol hydroclorid chuẩn hòa tan trong pha động và thêm pha động vừa đủ 50,0 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 30 mg ambroxol hydroclorid vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động, lắc kỹ để hòa tan và thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 10 mg ambroxol hydroclorid chuẩn trong 0,2 ml *methanol (TT)*, thêm 0,04 ml hỗn hợp *formaldehyd - nước* (1 : 99). Đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 30 min. Làm bay hơi đến khô dưới luồng khí nitrogen. Hòa tan cặn trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 248 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của pic sản phẩm phân hủy (tạp chất B) so với ambroxol (thời gian lưu khoảng 9 min) khoảng 0,6; độ phân giải giữa pic tạp chất B và pic ambroxol không nhỏ hơn 4,0.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ambroxol hydroclorid có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic của ambroxol hydroclorid trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$ của ambroxol hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc long đờm.

Hàm lượng thường dùng
30 mg.

VIÊN NÉN AMBROXOL HYDROCLORID
Tabellae Ambroxoli hydrochloridi

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

Hàm lượng ambroxol hydroclorid, $C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ambroxol hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử ở mục Độ hòa tan, phổ thu được có hai cực đại hấp thụ tại bước sóng 244 nm và 308 nm.

Độ hòa tan
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc thu được với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 15 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 244 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng ambroxol hydroclorid hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch ambroxol hydroclorid chuẩn được pha trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương nồng độ ambroxol hydroclorid của dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng ambroxol hydroclorid, $C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, điều kiện sắc ký như mô tả ở mục Định lượng.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 100 mg ambroxol hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 70 ml pha động, lắc siêu âm để hòa tan, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích các pic phụ (không tính đến pic do dung môi) không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

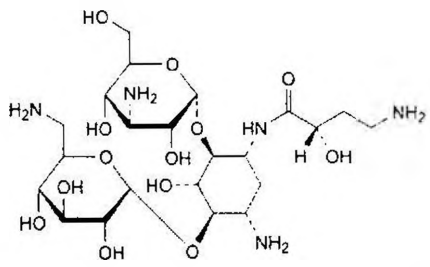
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - dung dịch diamoni hydrophosphat 0,01 M được chỉnh đến pH 7,0 bằng acid phosphoric* (50 : 50).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg ambroxol hydroclorid chuẩn hòa tan trong pha động và thêm pha động vừa đủ 50,0 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg ambroxol hydroclorid vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động, lắc kỹ để hòa tan và thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 10 mg ambroxol hydroclorid chuẩn trong 0,2 ml *methanol (TT)*, thêm 0,04 ml hỗn hợp *formaldehyd - nước* (1 : 99). Làm nóng ở 60 °C trong 30 min. Làm bay hơi đến khô dưới luồng khí nitrogen. Hòa tan cắn trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 248 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của pic sản phẩm phân hủy (tạp chất B) so với ambroxol (thời gian lưu khoảng 9 min) khoảng 0,6; độ phân giải giữa pic tạp chất B và pic ambroxol không nhỏ hơn 4,0.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ambroxol hydroclorid có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic của ambroxol hydroclorid trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$ của ambroxol hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc long đờm.

Hàm lượng thường dùng
30 mg.

AMIKACIN
Amikacinum



$C_{22}H_{43}N_5O_{13}$ P.t.l: 585,6

Amikacin là 6-*O*-(3-amino-3-deoxy-α-*D*-glucopyranosyl)-4-*O*-(6-amino-6-deoxy-α-D-glucopyranosyl)-1-*N*-[(2*S*)-4-amino-2-hydroxybutanoyl]-2-deoxy-D-streptamin, chất kháng khuẩn điều chế từ kanamycin A, phải chứa từ 96,5 % đến 102,5 % $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$ tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc gần như trắng. Hơi tan trong nước, khó tan trong methanol, thực tế không tan trong aceton và ethanol 96 %.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của amikacin chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Lấy lớp dưới sau khi lắc kỹ và để yên cho tách lớp của hỗn hợp đồng thể tích của *amoniac đặc (TT)*, *methanol (TT)* và *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg amikacin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg kanamycin monosulfat chuẩn trong 1 ml dung dịch thử, pha loãng thành 10 ml bằng *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun *dung dịch ninhydrin (TT)*, sấy ở 110 °C trong 5 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách ra rõ ràng.

pH
Từ 9,5 đến 11,5 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong vừa đủ 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, đem đo pH.

Góc quay cực riêng
Từ +97° đến +105°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (1), điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ không được dưới 50 % của thang đo.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa các pic tương ứng của amikacin và tạp chất A ít nhất là 3,5.
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic amikacin.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1):
Diện tích của pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1 %).
Diện tích của bất kỳ pic phụ khác không được lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Tổng diện tích các pic phụ (kể cả pic của tạp chất A) không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (1,5 %).
Bỏ qua các pic tương ứng với pic của dung dịch mẫu trắng và các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Nước
Không được quá 8,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,20 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch *kali dihydrophosphat* 0,27 % đã được chỉnh đến pH 6,5 bằng dung dịch *kali hydroxyd* 2,2 % - *methanol* (30 : 70).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *nước*, pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Lấy 0,2 ml dung dịch thu được, cho vào một lọ có nút thủy tinh mài đã có sẵn 2,0 ml *dung dịch acid 2,4,6-trinitrobenzen sulphonic 1 %*. Thêm 3,0 ml *pyridin (TT)*, đậy nút thật chặt. Lắc mạnh trong 30 s, sau đó đun nóng trong cách thủy ở 75 °C trong 45 min. Làm lạnh trong nước lạnh trong 2 min và thêm 2 ml *acid acetic băng (TT)*, lắc mạnh trong 30 s.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Tiến hành xử lý giống như dung dịch thử (1), bắt đầu từ "Lấy 0,2 ml dung dịch thu được".
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg tạp chất A chuẩn của amikacin trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*. Tiến hành xử lý giống như dung dịch thử (1), bắt đầu từ "Lấy 0,2 ml dung dịch thu được".

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50,0 mg amikacin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với *nước*. Tiến hành xử lý giống như dung dịch thử (1), bắt đầu từ "Lấy 0,2 ml dung dịch thu được".
Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg amikacin chuẩn và 5 mg tạp chất A chuẩn của amikacin trong *nước*, pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Tiến hành xử lý giống như dung dịch thử (1), bắt đầu từ "Lấy 0,2 ml dung dịch thu được".
Dung dịch mẫu trắng: Tiến hành giống như dung dịch thử (1), dùng 0,2 ml *nước*.
Duy trì nhiệt độ của các dung dịch ở 10 °C.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là octadecylsilyl silica gel (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 340 nm.
Tốc độ dòng 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (2), điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao pic chính không được dưới 50 % của thang đo.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic pic amikacin trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2) thu được từ 6 lần tiêm phải nhỏ hơn 2,0 %.
Tính hàm lượng của $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$ từ diện tích pic amikacin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2).

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm aminoglycosid.

Chế phẩm
Thuốc bột tiêm.

THUỐC TIÊM AMIKACIN
Injectio Amikacini

Là dung dịch vô khuẩn của amikacin sulfat trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amikacin, $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu hoặc hơi vàng nhạt.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac - nước (1 : 4 : 2 : 1)
Dung dịch thử: Hòa loãng một thể tích dung dịch chế phẩm với *nước* để thu được dung dịch có chứa 2,5 mg amikacin sulfat trong 1 ml *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg amikacin sulfat chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg kanamycin monosulfat chuẩn trong 1 ml dung dịch thử, pha loãng thành 10 ml bằng *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun *dung dịch ninhydrin (TT)*, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách ra rõ ràng.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic amikacin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Dung dịch chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của sulfat (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)
Hòa loãng chế phẩm với *nước BET* để thu được dung dịch có nồng độ amikacin tương ứng 10 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 3,3 EU trong 1 ml.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Dung dịch A - acetonitril* (98 : 2).
Dung dịch A: Hỗn hợp được pha trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* chứa 0,18 % *natri octansulfonat (TT)*, 2 % *natri sulfat khan (TT)*, 5,8 % (tt/tt) *acetonitril* (TT_L) và 5 % (tt/tt) *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M* đã được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric loãng (TT)*.
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích dung dịch chế phẩm bằng pha động để thu được dung dịch có nồng độ amikacin 0,5 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 65 mg amikacin sulfat chuẩn và hòa tan trong vừa đủ 100,0 ml pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *end-caped octadecylsilyl silica gel* (5 µm).
Nhiệt độ cột được duy trì ở 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 200 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.

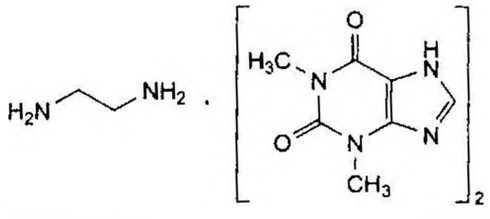
Thời gian chạy sắc ký bằng 1,3 lần thời gian lưu của amikacin.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic amikacin không được lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic amikacin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 1,5 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng của amikacin, $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$, trong chế phẩm từ diện tích pic amikacin trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$ trong amikacin sulfat chuẩn.
1 mg $C_{22}H_{43}N_5O_{13}.2H_2SO_4$ tương ứng với 0,7488 mg $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$.

Bảo quản
Đựng trong đồ đựng kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm aminoglycosid.

Hàm lượng thường dùng
Tính theo amikacin base: 50 mg/1 ml; 250 mg/ml (2 ml, 4 ml).

AMINOPHYLIN
Aminophyllinum
Theophylin ethylendiamin



$(C_7H_8N_4O_2)_2.C_2H_8N_2$ P.t.l: 420,4

Aminophylin là hỗn hợp ổn định của theophylin và ethylendiamin. Chế phẩm có thể khan hoặc ngậm nước, phải chứa từ 84,0 % đến 87,4 % theophylin ($C_7H_8N_4O_2$) và từ 13,5 % đến 15,0 % ethylendiamin ($C_2H_8N_2$), tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột hoặc hạt nhỏ trắng hay hơi vàng. Dạng khan dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước (dung dịch trở nên đục khi hấp thụ carbon dioxyd), thực tế không tan trong ethanol khan.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C, E.
Nhóm II: B, C, D, E, F.
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* bằng cách thêm từng giọt vừa thêm vừa lắc, lọc. Tủa dùng cho định tính A, B, D và F. Dịch lọc dùng cho định tính C.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa đã được rửa bằng *nước* và sấy khô ở 105 °C phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của theophylin chuẩn.
B. Tủa được rửa bằng *nước* và sấy khô ở 105 °C có điểm chảy từ 270 °C đến 274 °C (Phụ lục 6.7).
C. Thêm 0,2 ml *benzoyl clorid (TT)* vào dịch lọc. Kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và lắc kỹ. Lọc lấy tủa, rửa bằng 10 ml *nước*, hòa tan trong 5 ml *ethanol 96 % (TT)* nóng rồi thêm 5 ml *nước*. Tủa tạo thành, sau khi được rửa và sấy khô ở 105 °C, có điểm chảy từ 248 °C đến 252 °C (Phụ lục 6.7).
D. Đun khoảng 10 mg tủa với 1,0 ml *dung dịch kali hydroxyd 36 %* trong cách thủy ở 90 °C trong 3 min. Thêm 1,0 ml *dung dịch acid sulfanilic diazo hóa (TT)*, màu đỏ sẽ từ từ xuất hiện. Song song tiến hành một mẫu trắng.
E. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Nước.
F. Tủa phải cho phản ứng của nhóm xanthin (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ.
Dung dịch thu được không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu VL_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - dung dịch natri acetat 0,136 % có chứa 0,5 % (tt/tt) acid acetic băng* (7 : 93).
Dung dịch thử: Hòa tan 47 mg chế phẩm (với dạng khan) hoặc 50 mg chế phẩm (với dạng ngậm nước) trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg *theobromin (TT)* (tạp chất G) trong pha động, thêm 5 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 5 ml dung dịch thu được thành 50 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (7 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 272 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3,5 lần thời gian lưu của theophylin.
Thời gian lưu tương đối so với theophylin (thời gian lưu khoảng 6 min): Tạp chất G khoảng 0,6.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất G với pic của theophylin ít nhất là 2,0.

Giới hạn:
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 1,3,7-trimethyl-3.7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion (cafein).
Tạp chất B: 3-methyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion.
Tạp chất C: *N*-(6-amino-1,3-dimethyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimidin-5-yl)formamid.
Tạp chất D: *N*-methyl-5-(methylamino)-1*H*-imidazol-4-carboxamid.
Tạp chất E: 1,3-dimethyl-7,9-dihydro-1*H*-purin-2,6,8(3*H*)-trion.
Tạp chất F: 7-(2-hydroxyethyl)-1,3-dimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion (etofylin).
Tạp chất G: 3,7-dimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion (theobromin).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8). Dùng *nước* làm dung môi.
Lấy 0,500 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 8. Chuẩn bị 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.
Sẽ có tủa tạo thành khi thêm dung dịch đệm pH 3,5. Tủa phải tan lại hoàn toàn khi pha loãng đến 100 ml bằng *nước*.

Nước
Không được quá 1,5 % (với dạng khan) (Phụ lục 10.3).
Từ 3,0 đến 8,0 % (với dạng ngậm nước) (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,50 g chế phẩm.

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

Định lượng
***Ethylendiamin*:** Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 30 ml *nước*, thêm 0,1 ml *dung dịch lục bromocresol (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* cho tới khi xuất hiện màu xanh lục.
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 3,005 mg $C_2H_8N_2$.
***Theophylin*:** Sấy khoảng 0,200 g chế phẩm ở 135 °C đến khối lượng không đổi. Hòa tan cắn trong 100 ml *nước* bằng cách đun nóng, để nguội, thêm 20 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M* và lắc. Thêm 1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho tới khi có màu xanh lam.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 18,02 mg $C_7H_8N_4O_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Giãn khí - phế quản, giãn cơ trơn mạch máu, lợi tiểu. Trị hen suyễn.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

THUỐC TIÊM AMINOPHYLIN
Injectio Aminophyllini

Thuốc tiêm aminophylin là dung dịch vô khuẩn chứa aminophylin hoặc aminophylin hydrat trong nước để pha thuốc tiêm không có carbon dioxyd.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ethylendiamin, $C_2H_8N_2$, không quá 0,295 g đối với mỗi gam theophylin khan, $C_7H_8N_4O_2$, được xác định ở phần định lượng theophylin.

Hàm lượng theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, từ 81,4 % đến 90,0 % so với lượng ghi trên nhãn của aminophylin.

Tính chất
Dung dịch trong.

Định tính
A. Lấy một thể tích chế phẩm chứa khoảng 0,1 g aminophylin, thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, lắc đều, để yên vài phút, lọc. Rửa tủa với lượng nhỏ nước lạnh và sấy khô ở 105 °C. Phổ hấp thụ hồng ngoại của tủa phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của theophylin hoặc phổ hồng ngoại của theophylin chuẩn (Phụ lục 4.2).
B. Lấy một thể tích chế phẩm chứa khoảng 0,1 g aminophylin, thêm 2 ml *dung dịch đồng sulfat 1 %*, lắc. Màu xanh tím xuất hiện.
C. Bay hơi một lượng thể tích chế phẩm chứa khoảng 60 mg aminophylin đến khô trên đĩa sứ, thêm 1 ml *acid hydrocloric (TT)* và 0,1 g *kali clorat (TT)*, bay hơi đến khô. Cắn xuất hiện màu đỏ nhạt, khi đưa vào hơi amoniac của *dung dịch amoniac 5 M (TT)* cắn chuyển sang màu tía.

pH
Từ 8,8 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Theophylin: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với 0,1 g aminophylin vào bình định mức 250 ml, thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* đến vạch. Lấy chính xác 5 ml dung dịch thu được vào bình định mức 250 ml, thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* đến vạch. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 275 nm (Phụ lục 4.1), dùng *dung*

dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 650 là giá trị A (1 %, 1 cm) của theophylin ở bước sóng 275 nm.
Ethylendiamin: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng 0,5 g aminophylin vào bình nón 100 ml, thêm *nước* nếu cần để được 20 ml, thêm 0,1 ml *dung dịch lục bromocresol (TT_1)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (CĐ)* cho đến khi màu xanh lam chuyển sang xanh lục.
1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (CĐ)* tương đương với 3,005 mg $C_2H_8N_2$.
Tính lượng ethylendiamin, $C_2H_8N_2$, có trong mỗi gam theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, được tìm thấy ở phần định lượng theophylin.

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

Loại thuốc
Thuốc trị hen suyễn.

Hàm lượng thường dùng
0,240 g/10 ml.

VIÊN NÉN AMINOPHYLIN
Tabellae Aminophyllini

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

Hàm lượng của theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, từ 81,4 % đến 90,0 % so với lượng ghi trên nhãn của aminophylin.

Hàm lượng của ethylendiamin, $C_2H_8N_2$, từ 10,9 % đến 12,1% so với lượng ghi trên nhãn của aminophylin.

Định tính
Lấy một lượng bột viên tương ứng với 0,5 g aminophylin, thêm 20 ml *nước*, lắc, lọc, thêm từng giọt 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* vào dịch lọc, lắc. Để yên vài phút, lọc, tủa dùng làm định tính mục A, B và dịch lọc làm định tính mục C. Rửa tủa với lượng nhỏ *nước* lạnh, kết tinh lại bằng nước nóng và sấy khô tủa thu được ở 105 °C.
A. Tủa có điểm chảy khoảng 271 °C (Phụ lục 6.7).
B. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của theophylin hoặc phổ hấp thụ hồng ngoại của theophylin chuẩn.
C. Thêm 2,0 ml *benzoyl clorid (TT)* vào dịch lọc. Kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*, lắc mạnh, lọc lấy tủa và rửa bằng *nước* lạnh. Kết tinh lại bằng hỗn hợp *nước - ethanol 96 %* (1 : 3), rửa và sấy khô ở 100 °C. Tinh thể có điểm chảy khoảng 250 °C (Phụ lục 6.7)
D. Hòa tan lượng bột viên tương ứng khoảng 0,25 g aminophylin với 5 ml *nước*, lọc. Thêm 2 ml *dung dịch đồng sulfat 1 % (TT)* vào 2 ml dịch lọc, lắc. Màu xanh tía xuất hiện.

Độ hòa tan của theophylin (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 7,0 (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước (45 : 55).
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 10 ml dịch lọc pha loãng bằng *đệm phosphat chuẩn pH 7,0 (TT)* (nếu cần) để có nồng độ tương ứng với nồng độ của dung dịch chuẩn.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg theophylin chuẩn vào bình định mức 100 ml, hòa tan và pha loãng bằng *đệm phosphat chuẩn pH 7,0 (TT)* đến vạch. Hút 1,0 ml dung dịch này vào bình định mức 50 ml, pha loãng bằng *đệm phosphat chuẩn pH 7,0 (TT)* đến vừa đủ.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 cm), được nhồi silica đã được gắn với nhóm phenyl (5 µm) (Cột Apex phenyl là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 273 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính lượng theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, được hòa tan dựa vào diện tích pic theophylin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_7H_8N_4O_2$ của theophylin chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, so với lượng được quy ra từ lượng aminophylin ghi trên nhãn, được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Theophylin: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 80 mg aminophylin vào bình định mức 200 ml, thêm hỗn hợp 20 ml *natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và 60 ml *nước*, lắc 10 min, pha loãng bằng *nước* vừa đủ đến vạch, lắc, lọc, bỏ 20 ml dung dịch đầu. Lấy 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 250 ml, pha loãng bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 275 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 650 là giá trị A (1 %, 1 cm) của theophylin ở cực đại 275 nm.
Ethylendiamin: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,3 g aminophylin vào bình nón 100 ml, thêm 20 ml *nước*, lắc, đun nóng ở 50 °C trong 30 min, thêm 0,1 ml *dung dịch lục bromocresol (TT_1)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (CĐ)* cho đến khi xuất hiện màu xanh lục.

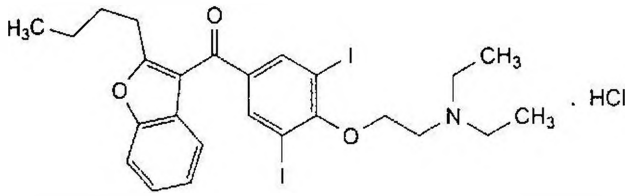
1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (CĐ)* tương đương với 3,005 mg $C_2H_8N_2$.

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

Loại thuốc
Thuốc trị hen suyễn.

Hàm lượng thường dùng
100 mg.

AMIODARON HYDROCLORID
Amiodaroni hydrochloridum



$C_{25}H_{29}I_2NO_3.HCl$ P.t.l.: 681,8

Amiodaron hydroclorid là (2-butylbenzofuran-3-yl)[4-[2-(diethylamino)ethoxy]-3,5-diiodophenyl] methanon hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{25}H_{29}I_2NO_3.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột tinh thể mịn, trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong methylen clorid, tan trong methanol, hơi tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong nước.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của amiodaron hydroclorid chuẩn.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng (B) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VL_5 hay VN_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 3,2 đến 3,8 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách đun ở 80 °C, để nguội và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Tạp chất H
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Acid formic khan - methanol - methylen clorid (5 : 10 : 85).
Pha các dung dịch ngay trước khi sử dụng và tránh ánh sáng.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,500 g chế phẩm vào *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg *(2-cloroethyl) diethylamin hydroclorid* (Tạp chất H) trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml với *methylen clorid (TT).*
Dung dịch đối chiếu (2): Trộn đều 2,0 ml dung dịch thử với 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 50 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1), 100 µl dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm, để khô bản mỏng ngoài không khí. Phun lên bản mỏng lần lượt *thuốc thử kali iodobismuthat (TT_1)* và *dung dịch hydrogen peroxyd loãng (TT).* Quan sát ngay dưới ánh sáng ban ngày. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho thấy rõ vết tạp chất H.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, màu của vết có R_f tương ứng với tạp chất H không đậm hơn màu của vết chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) (0,02 %).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch đệm pH 4,9 - methanol - acetonitril (30 : 30 : 40).
Dung dịch đệm pH 4,9: Thêm 3,0 ml *acid acetic băng (TT)* vào 800 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,9 bằng dung dịch *ammoniac loãng (TT)* và pha loãng thành 1000 ml với *nước.*
Dung dịch thử: Hòa tan 0,125 g chế phẩm vào hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril (TT)* và *nước*, pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5 mg tạp chất amiodaron D chuẩn, 5 mg tạp chất amiodaron E chuẩn và 5,0 mg amiodaron hydroclorid chuẩn vào *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril (TT)* và *nước.*
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 240 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Triển khai sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của amiodaron.
Thời gian lưu tương đối so với amiodaron (thời gian lưu khoảng 24 min): tạp chất A khoảng 0,26; tạp chất D khoảng 0,29; tạp chất E khoảng 0,37; tạp chất B khoảng 0,49; tạp chất C khoảng 0,55; tạp chất G khoảng 0,62; tạp chất F khoảng 0,69.

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, hệ số phân giải giữa các pic tương ứng với tạp chất D và tạp chất E ít nhất là 3,5.

Giới hạn:

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của từng pic tạp chất A, B, C, D, E, F, G không được lớn hơn diện tích của pic amiodaron trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %).

Diện tích của các pic tạp chất chưa định danh không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic amiodaron trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).

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

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic amiodaron trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (2-butylbenzofuran-3-yl)[4-[2-(diethylamino)ethoxy] phenyl] methanon.

Tạp chất B: (2-butylbenzofuran-3-yl)[4-[2-(ethylamino)ethoxy] -3,5-diiodophenyl] methanon,

Tạp chất C: (2-butylbenzofuran-3-yl)[4-[2-(diethylamino)ethoxy]-3-iodophenyl] methanon,

Tạp chất D: (2-butylbenzofuran-3-yl)(4-hydroxy-3,5-diiodo-phenyl) methanon,

Tạp chất E: (2-butylbenzofuran-3-yl)(4-hydroxyphenyl)methanon,

Tạp chất F: (2-butylbenzofuran-3-yl)(4-hydroxy-3-iodo-phenyl) methanon,

Tạp chất G: [2-[(1*RS*)-1-methoxybutyl]benzofuran-3-yl][4-[2-(diethylamino)ethoxy]-3,5-diiodophenyl]methanon,

Tạp chất H: 2-cloro-*N,N*-diethylethanamin (2-clorotri-ethylamin, (2-cloroethyl)diethylamin).

Iodid

Không được quá 0,015 %.

Pha đồng thời dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Dung dịch A: Hòa tan 1,50 g chế phẩm trong 40 ml *nước* ở 80 °C và lắc cho đến khi tan hoàn toàn. Để nguội và pha loãng thành 50,0 ml với *nước*.

Dung dịch thử: Thêm 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và 1,0 ml *dung dịch kali iodat 0,05 M* vào 15,0 ml dung dịch A. Pha loãng thành 20,0 ml với *nước*. Để yên trong chỗ tối khoảng 4 h.

Dung dịch đối chiếu: Thêm 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* 1,0 ml *dung dịch kali iodid 88,2 mg/l* và 1,0 ml *dung dịch kali iodat 0,05 M (TT)* vào 15,0 ml dung dịch A. Pha loãng thành 20,0 ml với *nước (TT)*. Để yên trong chỗ tối khoảng 4 h.

Cách tiến hành: Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch ở bước sóng 420 nm, dùng mẫu trắng là hỗn hợp 15,0 ml dung dịch A và 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, pha loãng thành 20,0 ml với *nước*. Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn 0,5 lần độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

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

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

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 50 °C; áp suất không quá 0,3 kPa; 4 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan khoảng 0,600 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 75 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tiêu thụ giữa 2 điểm uốn.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 68,18 mg $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín, tránh ánh sáng, nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

Chẹn kênh kali, chống loạn nhịp.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN AMIODARON

Tabellae Amiodaroni

Là viên nén chứa amiodaron hydroclorid.

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

Hàm lượng amiodaron hydroclorid, $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng khoảng 0,1 g amiodaron hydroclorid với 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc kỹ, lọc. Dịch lọc dùng cho các phép thử sau: Lấy 0,1 ml dịch lọc pha loãng với 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở dải sóng từ 200 nm đến 350 nm, dung dịch có cực đại hấp thụ ở 242 nm và cực tiểu hấp thụ ở 223 nm. Tỷ lệ độ hấp thụ ở 242 nm so với độ hấp thụ ở 223 nm phải từ 1,47 đến 1,61.

Lấy 5 ml dịch lọc, thêm *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, dung dịch thu được bị đục, lọc. Thêm tiếp *dung dịch amoniac 10 % (TT)* vào dịch lọc đến khi dịch lọc không còn đục, lọc để thu được dung dịch trong (lọc qua màng lọc 0,45 µm). Lấy 2 ml dịch lọc này acid hóa bằng *dung dịch acid nitric 32 % (TT)* (kiểm tra bằng giấy chỉ thị), thêm 2 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (TT)*, xuất hiện tủa trắng, tủa này tan trong *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, tủa xuất hiện lại khi thêm *dung dịch acid nitric 32 % (TT)*.

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

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch đệm pH 4,9 - methanol - acetonitril (30 : 30 : 40).

Dung dịch đệm pH 4,9: Thêm 3,0 ml *acid acetic băng (TT)* vào 800 ml *nước*, chỉnh về pH 4,9 bằng *dung dịch amoniac 10 %* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp *acetonitril - nước* (1 : 1).

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm đã nghiền mịn tương ứng với 25 mg amiodaron hydroclorid vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml hỗn hợp *acetonitril - nước* (1 : 1), lắc siêu âm 15 min, để nguội, thêm dung môi pha mẫu vừa đủ, lắc đều, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Lấy chính xác 1 ml dung dịch thử vào bình định mức 200 ml, pha loãng và làm vừa đủ bằng hỗn hợp *acetonitril - nước* (1 : 1).

Điều kiện sắc ký :

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung môi pha mẫu.

Tiêm dung dịch đối chiếu, số đĩa lý thuyết của cột xác định trên pic chính của dung dịch đối chiếu phải không nhỏ hơn 7000.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của pic amiodaron hydroclorid.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy

Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch natri laurylsulfat 0,25 %*.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ tương ứng với dung dịch chuẩn.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg amiodaron hydroclorid chuẩn vào bình định mức 200 ml, hòa tan và pha loãng vừa đủ bằng *ethanol 96 % (TT)*. Hút chính xác 5 ml dung dịch này pha loãng thành 50,0 ml bằng môi trường hòa tan.

Đo độ hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 243 nm (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, so với mẫu trắng là môi trường hòa tan.

Từ lượng amiodaron hydroclorid chuẩn, độ pha loãng của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, tính hàm lượng amiodaron hydroclorid, $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl, đã hòa tan.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng amiodaron hydroclorid, $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký như mô tả trong mục Tạp chất liên quan.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg amiodaron hydroclorid vào bình định mức 200 ml, hòa tan và pha loãng vừa đủ bằng hỗn hợp *acetonitril - nước* (1 : 1).

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 20 mg amiodaron hydroclorid vào bình định mức 200 ml, thêm 170 ml hỗn hợp *acetonitril - nước* (1 : 1), lắc siêu âm 15 min để hòa tan, để nguội, thêm hỗn hợp *acetonitril - nước* (1 : 1) tới vừa đủ, lắc đều, lọc.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Số đĩa lý thuyết của cột xác định trên pic chính của dung dịch chuẩn phải không nhỏ hơn 3000.

Tính hàm lượng amiodaron hydroclorid $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl trong amiodaron hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

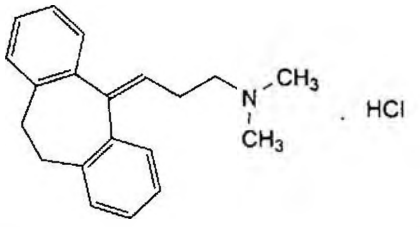
Thuốc chẹn kênh kali; chống loạn nhịp nhóm III.

Hàm lượng thường dùng

200 mg.

AMITRIPTYLIN HYDROCLORID

Amitriptylini hydrochloridum



$C_{20}H_{23}N.HCl$ P.t.l: 313,9

Amitriptylin hydroclorid là 3-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo [*a*,*d*][7]annulen-5-yliden)-*N*,*N*-dimethylpropan-1-amin hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{20}H_{23}N.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu hoặc bột trắng hay gần như trắng. Dễ tan trong nước, ethanol 96 % và methylen clorid.

Định tính

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

B. 20 mg chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu N_7 (Phụ lục 9.3), phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi. Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)*. Dung dịch phải có màu vàng. Thêm 0,4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*. Dung dịch chuyển sang màu đỏ.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm pH 7,0* (35 : 65).

Dung dịch đệm pH 7,0: Hòa tan 5,23 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong 1000 ml với *nước*, điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm vào pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg dibenzosuberon chuẩn (tạp chất A) và 5,0 mg cyclobenzaprin hydroclorid chuẩn (tạp chất B) trong 5,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 50,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped polar-embedded octadecylsilyl amorphous organosilica polymer* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của amitriptylin.

Thời gian lưu tương đối so với amitriptylin (thời gian lưu khoảng 14 min): Tạp chất B khoảng 0,9; tạp chất A khoảng 2,2.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của amitriptylin ít nhất là 2,0.

Giới hạn:

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

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

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

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic amitriptylin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic amitriptylin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a*,*d*][7]annulen-5-on (dibenzosuberon).

Tạp chất B: 3-(5*H*-dibenzo[*a*,*d*][7]annulen-5-yliden)-*N*,*N*-dimethylpropan-1-amin (cyclobenzaprin).

Tạp chất C: 3-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a*,*d*][7]annulen-5-yliden)-*N*-methylpropan-1-amin (nortriptylin).

Tạp chất D: 5-[3-(dimethylamino)propyl)]-10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a*,*d*][7]annulen-5-ol.

Tạp chất E: *N*,*N*-dimethyl-3-(1,2,3,4,4a,10,11,11a-octahydro-5*H*-dibenzo[*a*,*d*][7]annulen-5-yliden)propan-1-amin.

Tạp chất F: (5*EZ*,10*RS*)-5-[3-(dimethylamino)propyliden)-10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a*,*d*][7]annulen-5-ol.

Tạp chất G: 10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a*,*d*][7]annulen-5-ol (dibenzosuberol).

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 6. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C, 2 h).

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

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 30 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 31,39 mg $C_{20}H_{24}ClN$.

Bảo quản
Bảo quản tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống trầm cảm 3 vòng, ức chế tái thu nạp monoamin.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN AMITRIPTYLIN
Tabellae Amitriptylini

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

Hàm lượng amitriptylin hydroclorid, $C_{20}H_{23}N.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 10 mg amitriptylin hydroclorid với 100 ml *methanol (TT)*, lọc và pha loãng 10 ml dịch lọc thành 100 ml với *methanol (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ của dung dịch amitriptylin hydroclorid chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng dung môi.
B. Trong mục Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch amitriptylin hydroclorid chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương với nồng độ amitriptylin hydroclorid trong dung dịch thử.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch thu được ở hấp thụ cực đại khoảng 239 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng amitriptylin hydroclorid, $C_{20}H_{23}N.HCl$, hòa tan trong mỗi viên, dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{23}N.HCl$ của amitriptylin hydroclorid chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng amitriptylin hydroclorid, $C_{20}H_{23}N.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - Dung dịch đệm phosphat (42 : 58).
Dung dịch đệm phosphat: Hòa tan 11,04 g *natri dihydrophosphat monohydrat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 2,5 ± 0,5 bằng *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng amitriptylin hydroclorid chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,2 mg amitriptylin hydroclorid trong 1 ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg amitriptylin hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động và lắc kỹ, pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (30 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 - 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic amitriptylin hydroclorid không lớn hơn 2,0; số đĩa lý thuyết của cột không dưới 800; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic amitriptylin hydroclorid không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{20}H_{23}N.HCl$ của amitriptylin hydroclorid chuẩn, tính hàm lượng amitriptylin hydroclorid, $C_{20}H_{23}N.HCl$, có trong một viên.

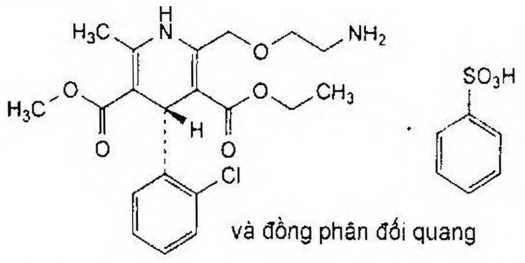
Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống trầm cảm.

Hàm lượng thường dùng
10 mg, 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg và 150 mg.

AMLODIPIN BESILAT

Amlodipini besilas



$C_{20}H_{25}ClN_2O_5.C_6H_6O_3S$ P.t.l: 567,1

Amlodipin besilat là 3-ethyl 5-methyl (4*RS*)-2-[(2-aminoethoxy)methyl]-4-(2-clorophenyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat benzensulfonat, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{20}H_{25}ClN_2O_5.C_6H_6O_3S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng.

Dễ tan trong methanol, hơi tan trong ethanol khan, khó tan trong nước và 2-propanol.

Định tính

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

Góc quay cực

Từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: Dung dịch amoni acetat 0,23 % - methanol (30 : 70).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng pha động.

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

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,5 mg tạp chất B chuẩn của amlodipin và 2,5 mg tạp chất G chuẩn của amlodipin trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 2,5 mg amlodipin chuẩn dùng để định tính pic (chứa các tạp chất D, E và F) trong 5 ml pha động.

Dung dịch đối chiếu (4): Hoà tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của amlodipin trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 50,0 mg amlodipin besilat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 30 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1), (2), (3) và (4).

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của amlodipin.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo amlodipin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của các tạp chất D, E và F. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất A.

Thời gian lưu tương đối so với amlodipin (thời gian lưu khoảng 20 min): Tạp chất G khoảng 0,21; tạp chất B khoảng 0,25; tạp chất D khoảng 0,5; tạp chất F khoảng 0,8; tạp chất E khoảng 1,3.

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

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất D là 1,7; tạp chất F là 0,7.

Tạp chất D: Diện tích pic tạp chất D đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,15 %).

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

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng các tạp chất: Không được quá 0,8 %.

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %); bỏ qua pic của benzen sulfonat (thời gian lưu tương đối so với amlodipin khoảng 0,14).

Ghi chú:

Tạp chất A: 3-ethyl 5-methyl (4*RS*)-4-(2-clorophenyl)-2-[[2-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-2*H*-isoindol-2-yl)ethoxy]methyl]-6-methyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat.

Tạp chất B: 3-ethyl 5-methyl (4*RS*)-4-(2-clorophenyl)-6-methyl-2-[[2-[[2-(methylcarbamoyl)benzoyl]amino]ethoxy] methyl] -1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat.
Tạp chất D: 3-ethyl 5-methyl 2-[(2-aminoethoxy)methyl]-4-(2-clorophenyl)-6-methylpyridin-3,5-dicarboxylat.
Tạp chất E: Dimethyl (4*RS*)-2-[(2-aminoethoxy)methyl]-4-(2-clorophenyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat.
Tạp chất F: Dimethyl (4*RS*)-2-[(2-aminoethoxy)methyl]-4-(2-clorophenyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat.
Tạp chất G: Dimethyl 4-(2-clorophenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat.
Tạp chất H: Acid 2-[[2-[[(4*RS*)-4-(2-clorophenyl)-3-(ethoxy-carbonyl) -5-(methoxycarbonyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridin-2-yl]methoxy]ethyl]carbamoyl]benzoic.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,000 g chế phẩm.

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

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (5).
Tính hàm lượng của $C_{26}H_{31}ClN_2O_8S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (5) và hàm lượng được công bố của $C_{26}H_{31}ClN_2O_8S$ trong amlodipin besilat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chẹn kênh calci.

Chế phẩm
Nang, viên nén.

VIÊN NÉN AMLODIPIN
Tabellae Amlodipini

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

Hàm lượng amlodipin, $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Lắc hỗn hợp *acid acetic băng - nước - methyl isobutyl ceton* (25 : 25 : 50), để tách lớp, lấy lớp trên.
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 10 mg amlodipin với 2 ml *methanol (TT)*, ly tâm lấy dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan amlodipin besilat chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có chứa 5 mg amlodipin trong 1 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để bay hơi dung môi. Quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 365 nm.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong mục Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc lý lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và *Điều kiện sắc ký* như mô tả ở mục Định lượng.
Dung dịch thử: Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg amlodipin, hòa tan trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với pha động. Ly tâm lấy dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động và pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg amlodipin besilat chuẩn trong 5 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc (TT)*. Đun nóng ở 70 °C trong 45 min.
Cách tiến hành:
Thời gian lưu tương đối giữa pic amlodipin và pic tạp chất D là khoảng 0,5.
Tiêm dung dịch phân giải, phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tương ứng với amlodipin và pic tạp chất D ít nhất là 4,5.
Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký đối với dung dịch thử trong khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của amlodipin. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, hai lần diện tích của pic tương ứng với tạp chất D không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Tổng diện tích của tất cả các pic tạp khác không được lớn hơn diện tích của pic chính trên trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Bỏ qua pic tương ứng với benzen sulfonat (thời gian lưu tương đối khoảng 0,2) và bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).*
Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch chuẩn: Dung dịch amlodipin besilat chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ tương ứng với nồng độ amlodipin besilat trong dung dịch thử.
Dung dịch thử: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan và lọc, loại bỏ dịch lọc đầu.
Đo độ hấp thụ của các dung dịch ở bước sóng 239 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng amlodipin, $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$ trong amlodipin besilat chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng amlodipin, $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

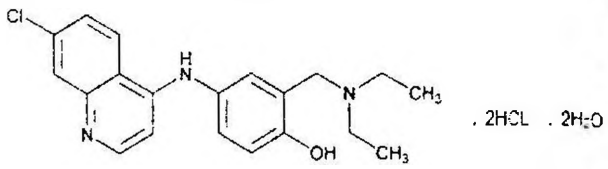
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch đệm triethylamin pH 3,0 - methanol - acetonitril (50 : 35 : 15)
Dung dịch đệm triethylamin pH 3,0: Hòa tan 7,0 ml *triethylamin (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 3,0 ± 0,1 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 70 mg amlodipin besilat chuẩn hòa tan trong pha động và pha loãng với pha động thành 100,0 ml. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg amlodipin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động, lắc siêu âm 10 min, để nguội, thêm pha động đến vạch, lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 237 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng amlodipin, $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$, trong chế phẩm dựa vào diện tích của pic amlodipin trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$ trong amlodipin besilat chuẩn.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng
5 mg; 10 mg.

AMODIAQUIN HYDROCLORID
Amodiaquini hydrochloridum



$C_{20}H_{22}ClN_3O.2HCl.2H_2O$ P.t.l: 464,8

Amodiaquin hydroclorid là 4-[(7-cloro-4-quinolinyl)amino]-2-[(diethylamino)-methyl]phenol dihydroclorid dihydrat hoặc 4-[(7-cloro-4-quinolyl)amino]-α-(diethylamino)-*o*-cresol dihydroclorid dihydrat, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{20}H_{22}ClN_3O.2HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu vàng, không mùi, vị hơi đắng. Tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong benzen, cloroform và ether.

Định tính
A. Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 10 ml *nước* trong bình chiết, thêm 1 ml *amoniac (TT)* và chiết bằng cách lắc với 25 ml *cloroform (TT)*. Gạn lấy dịch chiết cloroform, bay hơi cloroform đến cắn và sấy khô cắn ở 105 °C trong 2 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được đo dưới dạng đĩa kali bromid phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của amodiaquin hydroclorid chuẩn được chuẩn bị tương tự trong cùng điều kiện như với mẫu thử.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* nồng độ 10 µg/ml phải giống với phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch amodiaquin hydroclorid chuẩn có cùng nồng độ, trong cùng dung môi.
C. Dung dịch chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).
D. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic amodiaquin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ trong của dung dịch
Dung dịch 2 % chế phẩm trong *nước* phải trong (Phụ lục 9.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch chuẩn, dung dịch thử, dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính hàm lượng phần trăm tạp chất (nếu có) trên sắc ký đồ của dung dịch thử bằng phương pháp chuẩn hóa.

Giới hạn: Với mỗi tạp chất (nếu có) không được quá 0,5 %.

Nước
Từ 7,0 % đến 9,0 % (Phụ lục 10.3).

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

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*. Thêm 1,0 ml *acid percloric (TT)*, trộn đều và điều chỉnh đến pH 2,5 ± 0,5 bằng *acid phosphoric (TT)*. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Pha động: *Dung dịch đệm - methanol* (78 : 22). Nếu cần thì điều chỉnh tỷ lệ các thành phần trong pha động để đạt yêu cầu về tính phù hợp của hệ thống.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm cho vào bình định mức thích hợp, hòa tan và thêm *nước* vừa đủ đến vạch để được dung dịch có nồng độ amodiaquin hydroclorid khoảng 0,15 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng amodiaquin hydroclorid chuẩn cho vào bình định mức thích hợp, hòa tan và thêm *nước* vừa đủ đến vạch để được dung dịch có nồng độ amodiaquin hydroclorid khoảng 0,15 mg/ml.
Dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Cân chính xác một lượng amodiaquin hydroclorid chuẩn và cloroquin phosphat chuẩn cho vào bình định mức thích hợp, hòa tan và thêm *nước* vừa đủ đến vạch để được dung dịch có nồng độ amodiaquin hydroclorid khoảng 0,15 mg/ml và cloroquin phosphat khoảng 0,15 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 224 nm.
Nhiệt độ cột: (25 ± 5) °C.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và ghi lại sắc ký đồ. Thời gian lưu tương đối của pic amodiaquin hydroclorid là 1,0 và của pic cloroquin phosphat là 0,8; độ phân giải giữa pic của amodiaquin hydroclorid và cloroquin phosphat không được nhỏ hơn 1,5; hệ số đối xứng cho cả hai pic không được lớn hơn 1,5; và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic giữa 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng $C_{20}H_{22}ClN_3O.2HCl$ dựa vào diện tích của pic amodiaquin hydroclorid thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{22}ClN_3O.2HCl$ trong amodiaquin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc điều trị sốt rét.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN AMODIAQUIN HYDROCLORID
Tabellae Amodiaquini hydrochloridi

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

Hàm lượng amodiaquin, $C_{20}H_{22}ClN_3O$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic amodiaquin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng khoảng 30 mg amodiaquin hydroclorid với 10 ml *nước*, lọc. 2 ml dịch lọc phải cho phản ứng định tính của clorid (Phản ứng A, Phụ lục 8.1)

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan lọc, pha loãng dịch lọc đến nồng độ thích hợp với *nước* (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 342 nm với mẫu trắng là *nước*. Tính hàm lượng amodiaquin, $C_{20}H_{22}ClN_3O$, hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch amodiaquin hydroclorid chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng dung môi.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng amodiaquin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch đệm - methanol (78 : 22). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch đệm : Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*. Thêm 1,0 ml *acid percloric (TT)*, trộn đều và điều chỉnh tới pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch acid hydrocloric 1 % (tt/tt): Pha loãng 10 ml *acid hydrocloric (TT)* thành 1000 ml với *nước*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch amodiaquin hydroclorid chuẩn nồng độ 0,15 mg/ml trong *nước*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 60 mg amodiaquin hydroclorid

vào bình định mức 100,0 ml, thêm 60 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 % (tt/tt)*, lắc siêu âm trong 25 min ở nhiệt độ 29 °C, thêm *dung dịch acid hydrocloric 1 % (tt/tt)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 20 ml bằng *nước*.

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 0,15 mg/ml amodiaquin hydroclorid chuẩn và 0,15 mg/ml cloroquin phosphat chuẩn trong *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 224 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, ghi sắc ký đồ, thời gian lưu tương đối là 1,0 đối với pic amodiaquin và 0,8 với pic cloroquin; độ phân giải giữa hai pic amodiaquin hydroclorid và cloroquin phosphat không nhỏ hơn 1,5, hệ số đối xứng của hai pic không được lớn hơn 1,5. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trong 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng amodiaquin, $C_{20}H_{22}ClN_3O$, có trong một viên dựa vào diện tích pic đáp ứng của amodiaquin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{20}H_{22}ClN_3O$ trong amodiaquin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Thuốc chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

200 mg.

AMONI CLORID

Amonii chloridum

NH_4Cl P.t.l: 53,49

Amoni clorid phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % NH_4Cl, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể không màu, dễ tan trong nước.

Định tính

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

B. 10 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch) cho phản ứng của muối amoni (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

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

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Để chuyển màu dung dịch, không được dùng quá 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Bromid và iodid

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,05 ml *dung dịch cloramin T 2 % (TT)*. Sau 1 min, thêm 2 ml *cloroform (TT)* và lắc mạnh. Lớp cloroform phải không màu.

Sulfat

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

Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Calci

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.3).

Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng

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

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

Sắt

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 2 h).

Tro sulfat

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

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong 20 ml *nước*. Thêm một hỗn hợp gồm 5 ml *formaldehyd (TT)* đã được trung tính hóa trước theo chỉ thị là *dung dịch phenolphtalein (TT)* và 20 ml *nước*. Sau 1 min đến 2 min, chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)*. Dùng 0,2 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị.

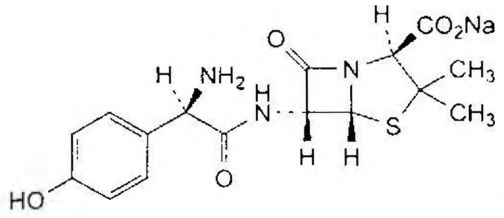
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* tương đương với 53,49 mg NH_4Cl.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Dùng để acid hóa nước tiểu và điều trị nhiễm kiềm chuyển hóa.

Chế phẩm
Dung dịch uống.

AMOXICILIN NATRI
Amoxicillinum natricum



$C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$ P.t.l.: 387,4

Amoxicilin natri là (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat natri, phải chứa từ 89,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$, tính theo chế phẩm khan.
Amoxicilin natri là sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất
Bột trắng hay gần như trắng, rất hút ẩm.
Rất tan trong nước, hơi tan trong ethanol khan, rất khó tan trong aceton.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 0,5 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*, khuấy đều và để yên trong nước đá 10 min. Lọc lấy tinh thể và rửa với 2 - 3 ml hỗn hợp dung môi gồm 1 thể tích *nước* và 9 thể tích *aceton (TT)*, sấy ở 60 °C trong 30 min. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tinh thể thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của amoxicilin trihydrat chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G* đã được silan hóa.
Dung môi khai triển: *Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % đã được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng acid acetic băng* (10 : 90).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri bicarbonat 4,2 % (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg amoxicilin trihydrat chuẩn trong 10 ml *dung dịch natri bicarbonat 4,2 % (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg amoxicilin trihydrat chuẩn và 25 mg ampicilin trihydrat chuẩn trong 10 ml *dung dịch natri bicarbonat 4,2 % (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Đặt bản mỏng vào bình bão hòa hơi iod cho đến khi các vết xuất hiện và kiểm tra bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương đương với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách ra rõ ràng.
C. Chế phẩm phải cho phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).
D. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Kiểm tra ngay sau khi pha.
Dung dịch thu được không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2). Dung dịch lúc đầu có thể có màu hồng nhưng chỉ trong thời gian rất ngắn, sau 5 min độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch đo ở bước sóng 430 nm (Phụ lục 4.1) không được lớn hơn 0,20.

pH
Từ 8,0 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng
Từ +240° đến +290°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 62,5 mg chế phẩm trong *dung dịch kali biphthalat 0,4 %* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat pH 5,0: Hút 250 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)*, thêm *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* đến pH 5,0 và pha loãng với *nước* thành 1000,0 ml.
Pha động A: *Acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 5,0* (1 : 99).
Pha động B: *Acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 5,0* (20 : 80).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 20,0 ml bằng cùng dung môi. Chuẩn bị ngay trước khi dùng.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30,0 mg amoxicilin trihydrat chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4,0 mg cefadroxil chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Lấy 5,0 ml dung dịch này thêm vào 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 100 ml với pha động A.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml với pha động A. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml với pha động A.
Dung dịch đối chiếu (4): Thêm 1,0 ml *nước* vào 0,20 g *amoxicilin trihydrat (TT)*. Lắc đều và thêm từng giọt *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* để hòa tan hoàn toàn. pH của dung dịch thu được khoảng 8,5. Để dung dịch này ở nhiệt độ phòng trong 4 h. Pha loãng 0,5 ml dung dịch này thành 50,0 ml với pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min với chương trình gradient dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - t_R	92	8
t_R - (t_R + 25)	92 → 0	8 → 100
(t_R + 25) - (t_R+ 40)	0	100
(t_R + 40) - (t_R+ 55)	92	8

[t_R là thời gian lưu của amoxicilin xác định bằng dung dịch đối chiếu (3)].
Nếu phải điều chỉnh pha động để đạt được yêu cầu về độ phân giải thì việc điều chỉnh tỷ lệ thành phần sẽ được áp dụng ngay tại thời điểm bắt đầu chương trình gradient và cả trong phần Định lượng.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch đối chiếu (2) và (3), tiến hành sắc ký đẳng dòng với tỷ lệ pha động tại thời điểm bắt đầu. Tiêm dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (4), tiến hành sắc ký với chương trình gradient dung môi đã nêu ở trên. Tiêm pha động A để làm mẫu trắng, tiến hành sắc ký với chương trình gradient dung môi đã nêu ở trên.
Xác định các tạp chất: Trên sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu (4), 3 pic chính được rửa giải ra sau pic amoxicilin lần lượt là tạp chất C, dimer amoxicilin (tạp chất J; n = 1) và trimer amoxicilin (tạp chất J; n = 2).
Thời gian lưu tương đối so với amoxicilin của các chất như sau: Tạp chất C = khoảng 3,4; Tạp chất J (n = 1) = khoảng 4,1; Tạp chất J (n = 2) = khoảng 4,5.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), hệ số phân giải giữa pic của amoxicilin và pic của cefadroxil ít nhất là 2,0. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ giữa pha động A và pha động B.
Giới hạn:
Tạp chất J (n = 1): Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2), diện tích của pic tương ứng với tạp chất J (n = 1) không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (3,0 %).
Các tạp chất khác: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2), diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính và pic tương ứng với tạp chất J (n = 1) không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (2,0 %).
Tổng tất cả các tạp: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2), tổng diện tích của tất cả các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn 9 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (9,0 %).
Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).

N,N-dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 10.16, phương pháp 1 hoặc 2).

Acid 2-ethylhexanoic
Không được quá 0,8 % (theo khối lượng) (Phụ lục 10.17).

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

Nước
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,400 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Dưới 0,25 EU/mg (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất các dạng thuốc tiêm phân liều mà không tiến hành các biện pháp thích hợp để loại nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu này.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), tiến hành như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Pha động: Hỗn hợp pha động A và pha động B với tỷ lệ tại thời điểm bắt đầu của chương trình gradient đã nêu, điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch đối chiếu (1) 6 lần. Phép thử không có giá trị nếu độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic chính lớn hơn 1,0 %.
Tiêm lần lượt dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1). Hàm lượng phần trăm của amoxicilin natri bằng hàm lượng phần trăm của amoxicilin nhân với hệ số 1,060.

Bảo quản
Đựng trong bao bì kín.
Nếu là nguyên liệu vô khuẩn: Đựng trong bao bì kín, vô khuẩn và tránh sự xâm nhập của vi khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM AMOXICILIN
Amoxicillini pro injectione

Bột pha tiêm amoxicilin là bột kết tinh vô khuẩn của amoxicilin natri đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với nước vô khuẩn để tiêm ngay trước khi dùng.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, phải từ 90,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc trắng ngà.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại của amoxicilin natri chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % đã được điều chỉnh đến pH 5,0 với acid acetic băng (10 : 90).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm trong *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ amoxicilin 0,25 %.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn 0,25 % trong *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu (2): Pha dung dịch có chứa amoxicilin trihydrat chuẩn và ampicilin trihydrat chuẩn trong *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)* để có nồng độ mỗi chất là 0,25 %.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Cho vào bình chứa hơi iod để phát hiện các vết.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương đương về vị trí, màu sắc, kích thước với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi 2 vết của dung dịch đối chiếu (2) được tách rời rõ ràng.
C. Có phản ứng đặc trưng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm
Pha chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* để được dung dịch chứa 10 % amoxicilin, pH phải từ 8,0 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Nước
Không được quá 4,0 % (Phụ lục 10.3). Dùng 0,3 g bột thuốc.

Nội độc tố vi khuẩn
Hòa tan một lượng chế phẩm trong *nước BET (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ amoxicilin 10 mg/ml (dung dịch A). Giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 2,5 EU/ml. Tiến hành thử nghiệm sử dụng giá trị pha loãng cực đại của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat sử dụng trong thử nghiệm (Phụ lục 13.2).

Chất phân hủy
Cân chính xác một lượng chế phẩm tương đương 0,24 g amoxicilin, thêm 25 ml *đệm boric pH 9,0* và 0,5 ml *dung dịch anhydrid acetic (TT),* khuấy trong 3 min. Thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 4,6* và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch thủy ngân (II) nitrat 0,02 N (CĐ)* bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch thủy ngân (II) nitrat 0,02 N (CĐ)* tương đương với 7,748 mg chất phân hủy (tính theo amoxicilin natri, $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$).
Chế phẩm không được có quá 9,0 % chất phân hủy, tính theo amoxicilin natri, $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Pha động A - pha động B (92 : 8).
Pha động A: Trộn 1 thể tích *acetonitril (TT)* với 99 thể tích dung dịch chứa 25 % (tt/tt) *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* đã được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT).*
Pha động B: Trộn 20 thể tích *acetonitril (TT)* với 80 thể tích dung dịch chứa 25 % (tt/tt) *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* đã được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT).*
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ để tính khối lượng trung bình của thuốc trong một đơn vị chế phẩm, trộn đều rồi cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 60 mg amoxicilin vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml pha động A, lắc trong 15 min sau đó lắc siêu âm trong 1 min rồi thêm pha động A vừa đủ đến vạch, trộn đều và lọc.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn 0,070 % trong pha động A.
Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 0,003 % amoxicilin trihydrat chuẩn và 0,0004 % cefadroxil chuẩn trong pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Hypersil ODS là thích hợp).
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải. Thử nghiệm chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa 2 pic amoxicilin và cefadroxil không nhỏ hơn 2. Điều chỉnh thành phần của pha động để đạt yêu cầu độ phân giải trên (nếu cần).

Tiến hành sắc ký với lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, trong một đơn vị chế phẩm từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản
Tránh ẩm, ở nhiệt độ không quá 25 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg, 1000 mg, tính theo amoxicilin.

BỘT PHA TIÊM AMOXICILIN VÀ ACID CLAVULANIC

Amoxicillini et Acidi clavulanici pulvis ad injectionem

Bột pha tiêm amoxicilin và acid clavulanic là bột vô khuẩn của amoxicilin natri và kali clavulanat đóng trong lọ thủy tinh nút kín.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc trắng ngà.

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

Giới hạn acid - kiềm
Pha chế phẩm trong nước không có *carbon dioxyd (TT)* để được dung dịch chứa 10 % amoxicilin, pH phải từ 8,0 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Nước
Không được quá 3,5 % (Phụ lục 10.3). Dùng 0,5 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Tiến hành thử theo chuyên luận "Phép thử nội độc tố vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).
Hòa tan một lượng chế phẩm trong *nước BET (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ amoxicilin 10 mg/ml (dung dịch A). Giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 2,5 EU/ml.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp 5 thể tích *methanol (TT)* và 95 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat monohydrat 0,78 %* đã được điều chỉnh đến pH 4,4 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT).*
Dung dịch chuẩn: Dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn và clavulanat lithi chuẩn (hoặc clavulanat kali chuẩn) trong *nước* có nồng độ tương ứng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, là 0,5 mg/ml và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, là 0,125 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ, tính khối lượng trung bình và trộn đều. Cân chính xác một lượng chế phẩm, tương ứng với khoảng 50 mg amoxicilin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *nước*, lắc cho tan, pha loãng bằng *nước* đến vạch, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Thời gian lưu tương đối của acid clavulanic khoảng 0,5 và amoxicilin là 1,0. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic amoxicilin và acid clavulanic không nhỏ hơn 3,5; hệ số đối xứng của pic amoxicilin và acid clavulanic không lớn hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic amoxicilin và acid clavulanic không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ của amoxicilin trihydrat chuẩn và $C_8H_9NO_5$ của clavulanat lithi chuẩn (hoặc clavulanat kali chuẩn).

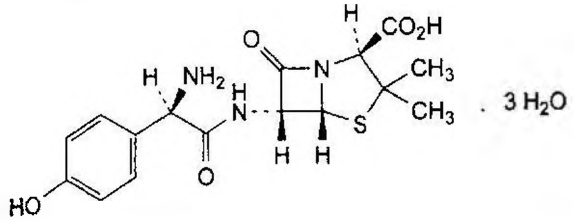
Bảo quản
Bảo quản trong bao bì kín, nơi khô, mát và tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
0,6 g (0,5 g amoxicilin và 0,1 g acid clavulanic).
1,2 g (1,0g amoxicilin và 0,2 g acid clavulanic).

AMOXICILIN TRIHYDRAT

Amoxicillinum trihydricum



$C_{16}H_{19}N_3O_5S.3H_2O$ P.t.l: 419,4

Amoxicilin trihydrat là acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic trihydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.

Khó tan trong nước và rất khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong dầu béo. Tan trong các dung dịch acid loãng và dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

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

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng theo "Định tính các penicilin" (Phụ lục 8.2), dùng pha động B.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng B trong phép thử "Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin" (Phụ lục 8.3).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan riêng biệt 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)* và 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch amoniac 2 M (TT)*. Quan sát ngay sau khi hòa tan, cả hai dung dịch trên không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2).

pH

Dung dịch S: Lắc siêu âm hoặc đun nóng nhẹ để hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 50,0 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

pH của dung dịch S phải từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +290° đến +315°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 5.13).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm pH 5,0: Thêm *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* vào 250 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* đến pH 5,0 và pha loãng thành 1000,0 ml bằng *nước*.

Pha động A: Acetonitril - dung dịch đệm pH 5,0 (1 : 99).

Pha động B: *Acetonitril - dung dịch đệm pH 5,0* (20 : 80).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Dùng ngay sau khi pha.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30,0 mg amoxicilin trihydrat chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4,0 mg cefadroxil chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Hút 5,0 ml dung dịch thu được và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thêm pha động A vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động A.

Điều kiện sắc ký:

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

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

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

Thời gian (min)	Pha động A (tt/tt)	Pha động B (tt/tt)
0 - t_R	92	8
t_R - (t_R + 25)	92 → 0	8 → 100
(t_R + 25) - (t_R + 40)	0	100
(t_R + 40) - (t_R + 55)	92	8

t_R = thời gian lưu của amoxicilin xác định được ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Nếu điều chỉnh tỷ lệ pha động để đạt được độ phân giải yêu cầu, việc điều chỉnh này phải được thực hiện ngay tại thời điểm 0 của chương trình dung môi và ở phần Định lượng.

Tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động như thời điểm bắt đầu chương trình dung môi với dung dịch đối chiếu (2) và (3). Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi ở trên với dung dịch thử (2) và mẫu trắng là pha động A.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của amoxicilin với pic của cefadroxil ít nhất là 2,0 (điều chỉnh tỷ lệ pha động A : B nếu cần).

Giới hạn:

Các tạp chất: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1 %).

Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6-aminopenicilanic).
Tạp chất B: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*S*)2-amino-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0] heptan-2-carboxylic (L-amoxicilin).
Tạp chất C: Acid (4*S*)-2-[5-(4-hydroxyphenyl)-3,6-dioxopiperazin-2-yl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (amoxicilin diketopiperazin).
Tạp chất D: Acid (4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl]amino]carboxymethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniciloic của amoxicilin).
Tạp chất E: Acid (2*RS*,4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniloic của amoxicilin).
Tạp chất F: 3-(4-hydroxyphenyl)pyrazin-2-ol.
Tạp chất G: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl]amino]-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0] heptan-2-carboxylic (D-(4-hydroxyphenyl)glycylamoxicilin).
Tạp chất H: Acid (2*R*)-2-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-2-(4-hydroxyphenyl)acetic.
Tạp chất I: Acid (2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetic.
Tạp chất J: Các co-oligomer của amoxicilin và acid peniciloic của amoxicilin.
Tạp chất K: Các oligomer của acid peniciloic của amoxicilin.
Tạp chất L: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carbonyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (6-APA amoxicilin amid).

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 1 hoặc 2).

Nước
11,5 % đến 14,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,100 g chế phẩm.

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

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Pha động: Tỷ lệ ban đầu của pha động A và B. Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic amoxicilin trihydrat trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) thu được từ 6 lần tiêm không được lớn hơn 1,0%.
Tính hàm lượng phần trăm của $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Chế phẩm
Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch.

BỘT PHA HỖN DỊCH AMOXICILIN
Pulveres Amoxicillini ad suspensionum peroralum

Là thuốc bột chứa amoxicilin trihydrat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

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

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Aceton - nước - toluen - acid acetic băng (65 : 10 : 10 : 2,5)
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc tương ứng 100 mg amoxicilin trong 20 ml hỗn hợp gồm *aceton - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (4 : 1), lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong hỗn hợp gồm *aceton - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (4 : 1) để được dung dịch chứa 0,5 % amoxicilin.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch ninhydrin 0,3 % trong ethanol (TT)*, rồi sấy ở 90 °C trong 15 min. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải tương ứng về màu sắc và giá trị R_f.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH
pH của hỗn dịch tạo thành được chuẩn bị như hướng dẫn trên nhãn phải từ 5,0 đến 7.5 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 13.6 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 2000 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 5,0 ± 0,1 với *dung dịch kali hydroxyd 45 %.*

Pha động: *Dung dịch A - acetonitril* (96 : 4). Điều chỉnh tỷ lệ acetonitril để đạt điều kiện sắc ký yêu cầu (nếu cần).
Dung dịch chuẩn: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong dung dịch A để có nồng độ amoxicilin chính xác khoảng 1,2 mg/ml. Lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,45 µm (chỉ dùng trong vòng 6 h).
Dung dịch thử: Lấy bột thuốc sau khi xác định độ đồng đều khối lượng, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 120 mg amoxicilin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung dịch A, lắc để hòa tan và thêm dung dịch A đến định mức, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic amoxicilin không lớn hơn 2,5 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn không lớn hơn 2,0 %.
Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, trong chế phẩm từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản
Để ở nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg, tính theo amoxicilin khan.

NANG AMOXICILIN
Capsulae Amoxicillini

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

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Aceton - nước - toluen - acid acetic băng* (65 : 10 : 10 : 2,5)
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng 100 mg amoxicilin trong 20 ml hỗn hợp gồm *aceton - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (4 : 1), lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong hỗn hợp gồm *aceton - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (4 : 1) để được dung dịch chứa 0,5 % amoxicilin.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch ninhydrin 0,3 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 90 °C trong 15 min. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải giống nhau về màu sắc và giá trị R_f.
B. Thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử trong phần Định lượng phải tương ứng với thời gian lưu của pic amoxicilin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước
Không được quá 14,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng khoảng 0,100 g bột thuốc.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành: Lấy một lượng dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu, pha loãng nếu cần. Đo độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 272 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. So sánh với dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn trong *nước* có nồng độ tương đương. Tính hàm lượng của amoxicilin.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 2000 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 5,0 ± 0,1 với *dung dịch kali hydroxyd 45 %*.
Pha động: *Dung dịch A - acetonitril* (96 : 4). Điều chỉnh tỷ lệ acetonitril để đạt điều kiện sắc ký yêu cầu (nếu cần).
Dung dịch chuẩn: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong dung dịch A để có nồng độ amoxicilin chính xác khoảng 1,2 mg/ml (chỉ dùng trong vòng 6 h).
Dung dịch thử: Cân thuốc trong từng nang của 20 nang, tính khối lượng trung bình, trộn đều, rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng khoảng 0,200 g amoxicilin, pha trong dung dịch A vừa đủ 200,0 ml, lắc siêu âm để hòa tan và lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc không quá 1 µm (chỉ dùng trong vòng 6 h).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch chuẩn, tính trên pic chính thu được trên sắc ký đồ: hệ số

dung lượng phải nằm trong khoảng 1,1 đến 2,8; số đĩa lý thuyết của cột không nhỏ hơn 1700; hệ số đối xứng không lớn hơn 2,5 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn không lớn hơn 2,0 %.
Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, trong nang từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản
Để ở nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg, tính theo amoxicilin khan.

VIÊN NÉN AMOXICILIN
Tabellae Amoxicillini

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

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Aceton - nước - toluen - acid acetic băng (65 : 10 : 10 : 2,5)
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng 100 mg amoxicilin trong 20 ml hỗn hợp gồm *aceton - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (4 : 1), lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong hỗn hợp gồm *aceton - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (4 : 1) để được dung dịch chứa 0,5 % amoxicilin.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch ninhydrin 0,3 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 90 °C trong 15 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải giống nhau về màu sắc và giá trị R_f.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước
Không được quá 13,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng khoảng 0,15 g bột viên.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành: Lấy một lượng dung dịch, lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu, pha loãng nếu cần. Đo độ hấp thụ ở bước sóng cực đại khoảng 272 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. So sánh với dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn trong *nước* có nồng độ tương đương. Tính hàm lượng của amoxicilin.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 2000 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 5,0 ± 0,1 với *dung dịch kali hydroxyd 45 %*.
Pha động: Dung dịch A - acetonitril (96 : 4). Điều chỉnh tỷ lệ acetonitril để đạt điều kiện sắc ký yêu cầu (nếu cần).
Dung dịch chuẩn: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong dung dịch A để có nồng độ amoxicilin chính xác khoảng 1,2 mg/ml (chỉ dùng trong vòng 6 h).
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,2 g amoxicilin cho vào bình định mức 200 ml, thêm dung dịch A, lắc siêu âm để hòa tan, thêm đến định mức với cùng dung môi, trộn đều và lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc không quá 1 µm (chỉ dùng trong vòng 6 h).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm đến 10µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch chuẩn, tính trên pic chính thu được trên sắc ký đồ: hệ số dung lượng phải nằm trong khoảng 1,1 đến 2,8; số đĩa lý thuyết của cột không nhỏ hơn 1700; hệ số đối xứng không lớn hơn 2,5 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn không lớn hơn 2,0 %.
Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, trong viên từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản
Để ở nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg, tính theo amoxicilin khan.

BỘT PHA HỖN DỊCH AMOXICILIN VÀ ACID CLAVULANIC

Pulveres Amoxicillini et Acidi clavulanici ad suspensionum peroralum

Là thuốc bột pha hỗn dịch uống chứa amoxicilin trihydrat và kali clavulanat.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột khô tơi, không bị ẩm, vón.

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

pH
pH của hỗn dịch tạo thành được chuẩn bị như hướng dẫn trên nhãn phải từ 3,8 đến 6,6 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp 5 thể tích *methanol (TT)* và 95 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat monohydrat 0,78 %* đã được điều chỉnh đến pH 4,4 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT).*
Dung dịch chuẩn: Dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn và clavulanat lithi chuẩn (hoặc clavulanat kali chuẩn) trong *nước* có nồng độ tương ứng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, là 0,5 mg/ml và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, là 0,125 mg/ml.
Dung dịch thử: Lấy bột thuốc sau khi xác định Độ đồng đều khối lượng, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg amoxicilin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *nước*, lắc kỹ để hòa tan, thêm nước đến định mức, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Thời gian lưu tương đối của acid clavulanic khoảng 0,5 và amoxicilin là 1,0. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic amoxicilin và acid clavulanic không nhỏ hơn 3,5; hệ số đối xứng của pic amoxicilin và acid clavulanic không lớn hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic amoxicilin và acid clavulanic không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ của amoxicilin trihydrat chuẩn và $C_8H_9NO_5$ của clavulanat lithi chuẩn (hoặc clavulanat kali chuẩn).
1 mg clavulanat lithi, $C_8H_8LiNO_5$, tương ứng với 0,9711 mg acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$.

Bảo quản
Bảo quản trong lọ kín, nơi khô, mát và tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
125 mg amoxicilin và 31,25 mg acid clavulanic.
250 mg amoxicilin và 62,5 mg acid clavulanic.
200 mg amoxicilin và 28,5 mg acid clavulanic.
400 mg amoxicilin và 57 mg acid clavulanic.
600 mg amoxicilin và 42,9 mg acid clavulanic.

VIÊN NÉN AMOXICILIN VÀ ACID CLAVULANIC

Tabellae Amoxicillini et Acidi clavulanici

Là viên nén bao phim chứa amoxicilin trihydrat và kali clavulanat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

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

Nước (Phụ lục 10.3)
Không được quá 7,5 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin không lớn hơn 250 mg.
Không được quá 10,0 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin lớn hơn 250 mg, nhưng không lớn hơn 500 mg.
Không được quá 11,0 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin lớn hơn 500 mg.
Với viên nén dùng để nhai, không được quá 6,0 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin không lớn hơn 125 mg và không được quá 8,0 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin lớn hơn 125 mg.
Dùng 0,3 g bột viên đã nghiền mịn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 45 min.
Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần). Tiến hành định lượng amoxicilin và acid clavulanic hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, điều kiện sắc ký và dung dịch chuẩn như phần định lượng.
Yêu cầu:
Không ít hơn 70 % (Q) lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.
Không ít hơn 70 % (Q) lượng acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp 5 thể tích *methanol (TT)* và 95 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat monohydrat 0,78 %* đã được điều chỉnh đến pH 4,4 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn 0,05 % và clavulanat lithi chuẩn 0,02 % trong *nước*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên đã loại bỏ lớp bao phim và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,250 g amoxicilin vào bình định mức 500 ml, thêm 400 ml *nước* và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm)
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic amoxicilin và acid clavulanic không nhỏ hơn 3,5 và hệ số đối xứng của pic acid clavulanic không lớn hơn 1,5.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, trong dung dịch chuẩn.
1 mg clavulanat lithi, $C_8H_8LiNO_5$, tương ứng với 0,9711 mg acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$.

Bảo quản
Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
Viên nén tương ứng với 500 mg amoxicilin khan và 125 mg acid clavulanic.

NANG AMOXICILIN VÀ CLOXACILIN
Capsulae Amoxicillini et Cloxacillini

Là nang cứng chứa amoxicilin trihydrat và cloxacilin natri. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây.

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng cloxacilin, $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong mục Định lượng, hai pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của hai pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn amoxicilin và cloxacilin natri.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng định tính của natri (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành:
Định lượng amoxicilin và cloxacilin bằng phương pháp sắc ký lỏng với pha động và điều kiện sắc ký như mô tả trong mục Định lượng.
Dung dịch chuẩn amoxicilin: Pha dung dịch của amoxicilin trihydrat chuẩn trong *nước* có nồng độ tương đương nồng độ amoxicilin trong dung dịch thử.
Dung dịch chuẩn cloxacilin: Pha dung dịch của cloxacilin natri chuẩn trong *nước* có nồng độ tương đương nồng độ cloxacilin natri của dung dịch thử.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, hút dịch hòa tan, lọc. Pha loãng (nếu cần) bằng *nước* để thu được dung dịch có nồng độ amoxicilin khoảng 0,27 mg/ml.
Từ diện tích các pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn và $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$ trong cloxacilin natri chuẩn, tính lượng amoxicilin và cloxacilin trong viên hòa tan.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và 80 % lượng cloxacilin, $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

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

Pha động A: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,02 M, điều chỉnh đến pH 5,0 với *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M.*
Pha động B: Acetonitril.
Dung dịch chuẩn amoxicilin: Pha dung dịch của amoxicilin trihydrat chuẩn trong pha động A có nồng độ amoxicilin chính xác khoảng 0,25 mg/ml.
Dung dịch chuẩn cloxacilin: Pha dung dịch của cloxacilin natri chuẩn trong pha động A có nồng độ cloxacilin chính xác khoảng 0,25 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 100 mg amoxicilin vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm khoảng 70 ml pha động A, lắc siêu âm để hòa tan. Thêm pha động A vừa đủ đến vạch. Trộn đều. Lọc. Pha loãng 25,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với pha động A .
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 6	96	4
6 - 15	70	30
15 - 20	96	4

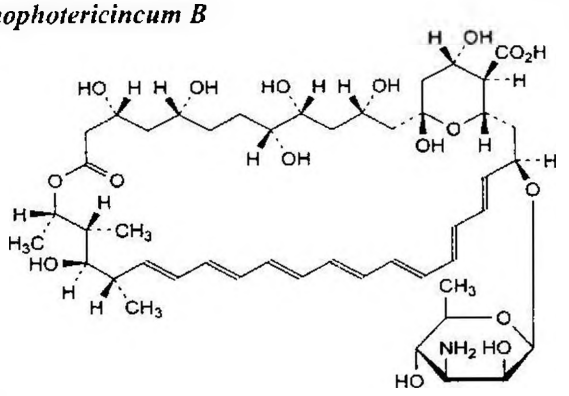
Điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn amoxoxilin và dung dịch chuẩn cloxacilin. Trên sắc ký đồ thu được, hệ số đối xứng của pic amoxicilin và cloxacilin không lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích từng pic của 6 lần tiêm lặp lại không quá 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Từ diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn và $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$ trong cloxacilin natri chuẩn, tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và cloxacilin, $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$ trong chế phẩm.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
250 mg tính theo amoxicilin và 250 mg tính theo cloxacilin.

AMPHOTERICIN B
Amophotericincum B



$C_{47}H_{73}NO_{17}$ P.t.l: 924,0

Amphotericin B là một hỗn hợp các polyen chống nấm được sản xuất bằng cách nuôi cấy một số giống *Streptomyces nodosus* hoặc bằng các phương pháp khác, chứa chủ yếu là amphotericin B.
Amphotericin B là: Acid (1*R*,3*S*,5*R*,6*R*,9*R*,11*R*,15*S*,16*R*,17*R*,18*S*,19*E*,21*E*,23*E*,25*E*,27*E*,29*E*,31*E*,33*R*,35*S*,36*R*,37*S*)-33-[(3-amino-3,6-dideoxy-β-D-mannopyranosyl)oxy]-1,3,5,6,9,11,17,37-octahydroxy-15,16,18-trimethyl-13-oxo-14,39-dioxabicyclo-[33.3.1]nonatriaconta-19,21,23,25,27,29, 31-heptaen-36 carboxylic.
Hoạt lực của chế phẩm không được nhỏ hơn 750 IU/mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu vàng hoặc da cam, hút ẩm.
Thực tế không tan trong nước và ethanol 96 %, tan trong dimethyl sulfoxyd và propylen glycol, khó tan trong dimethylformamid, rất khó tan trong methanol.
Dung dịch chế phẩm loãng nhạy cảm với ánh sáng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của amphotericin B chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm khác với phổ của chất chuẩn thì sấy chế phẩm và chất chuẩn ở 60 °C, áp suất không quá 0,7 kPa trong 1 h và tiến hành đo phổ mới.
B. Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 5 ml *dimethyl sulfoxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng *methanol (TT).* Pha loãng 2 ml dung dịch này thành 200 ml bằng *methanol (TT).* Phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 300 nm đến 450 nm cho 3 cực đại hấp thụ ở bước sóng 362 nm, 381 nm và 405 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở bước sóng 362 nm và bước sóng 381 nm phải từ 0,57 đến 0,61. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở bước sóng 381 nm và bước sóng 405 nm phải từ 0,87 đến 0,93.
C. Thêm 5 ml *acid phosphoric (TT)* vào 1 ml dung dịch chế phẩm 0,05 % trong *dimethyl sulfoxyd (TT)* sao cho lớp

acid nằm ở bên dưới, tránh làm trộn lẫn 2 lớp chất lỏng. Một vòng màu xanh lam xuất hiện ngay lập tức ở mặt tiếp xúc giữa 2 lớp chất lỏng. Lắc, màu xanh lam đậm được tạo thành. Thêm 15 ml *nước* và lắc, dung dịch sẽ chuyển thành màu vàng nhạt.

D. Trong phần Tạp chất liên quan, thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử tại bước sóng 383 nm phải giống thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tránh ánh sáng khi chuẩn bị các dung dịch và sử dụng trong vòng 24 h, trừ dung dịch đối chiếu (3) phải tiêm ngay sau khi pha.

Pha động A: *Methanol - acetonitril - dung dịch đệm pH 4,7* (1 : 3 : 6).

Pha động B: *Methanol - dung dịch đệm pH 3,9 - acetonitril* (12 : 20 : 68).

Dung dịch đệm pH 3,9: Dung dịch *acid citric* 0,42 % được điều chỉnh đến pH 3,9 bằng *amoniac đậm đặc (TT)*.

Dung dịch đệm pH 4,7: Dung dịch *acid citric* 0,42 % được điều chỉnh đến pH 4,7 bằng *amoniac đậm đặc (TT)*.

Hỗn hợp dung môi: *Dung dịch amoni acetat 1 % - N-methylpyrolidon - methanol* (1 : 1 : 2).

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong 15 ml *N-methylpyrolidon (TT)*, trong vòng 2 h pha loãng thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg amphotericin B chuẩn trong 15 ml *N-methylpyrolidon (TT)*, trong vòng 2 h pha loãng thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

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

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20,0 mg nystatin chuẩn trong 15 ml *N-methylpyrolidon (TT)*, trong vòng 2 h pha loãng thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng dung dịch đối chiếu (1). Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Để tạo ra tạp chất B và C, hòa tan 10 mg chế phẩm trong 5 ml *N-methylpyrolidon (TT)*, trong vòng 2 h thêm 35 ml hỗn hợp *methanol - ethanol* (1 : 4), thêm 0,10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* trộn đều và ủ ở 25 °C trong 2,5 h. Thêm 10 ml dung dịch *amoni acetat* 1% và trộn đều.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 4 mg amphotericin B chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất A và B) trong 5 ml *N-methylpyrolidon (TT)* trong vòng 2 h pha loãng thành 50 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch mẫu trắng: Hỗn hợp dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).

Nhiệt độ cột: 20 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 303 nm để phát hiện các tetraen, tại bước sóng 383 nm để phát hiện các heptaen.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

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

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 3	100	0
3 - 23	100 → 70	0 → 30
23 - 33	70 → 0	30 → 100
33 - 40	0	100

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2), (3), (4) và (5).

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo amphotericin B chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) để xác định pic của tạp chất A và tạp chất B.

Thời gian lưu tương đối so với amphotericin B (thời gian lưu khoảng 16 min): Tạp chất B khoảng 0,75; tạp chất A khoảng 0,8; nystatin khoảng 0,85.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống tại bước sóng 383 nm: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa 2 pic có thời gian lưu tương đối khoảng 0,7 ít nhất là 1,5.

Giới hạn:

Tại bước sóng 303 nm:

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (5,0 %); nếu sử dụng để sản xuất thuốc tiêm thì diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (2,0 %)

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).

Tại bước sóng 383 nm:

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (4,0 %).

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

Tổng các tạp chất ở bước sóng 303 nm và bước sóng 383 nm: Không được lớn hơn 15,0 %.

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Amphotericin A (28,29-dihydro-amphotericin B).

Tạp chất B: Amphotericin X1 (13-O-methyl-amphotericin B).

Tạp chất C: Amphotericin X2 (13-O-ethyl-amphotericin B).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; áp suất không quá 0,7 kPa; 60 °C).

Tro sulfat
Không được quá 3,0 % và không được quá 0,5 % khi sử dụng để sản xuất thuốc tiêm (Phụ lục 9.9, phương pháp 2). Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 1,0 EU/mg nếu sử dụng để sản xuất thuốc tiêm mà không có biện pháp hữu hiệu để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Trong quá trình định lượng, tất cả các dung dịch phải tránh ánh sáng.
Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *dimethyl sulfoxid (TT)* và vừa lắc vừa thêm dung môi này đến vừa đủ 25,0 ml. Lắc dung dịch gốc liên tục và từ dung dịch gốc này pha loãng bằng *dimethyl sulfoxid (TT)* để thu được các dung dịch có nồng độ thích hợp (44,4; 66,7 và 100 IU/ml). Dung dịch cuối cùng được chuẩn bị bằng cách pha loãng 20 lần các dung dịch trên bằng *dung dịch đệm số 14* (Phụ lục 13.9) vì vậy các dung dịch cuối cùng có chứa 5 % (tt/tt) *dimethyl sulfoxid (TT)*. Chuẩn bị đồng thời dung dịch chuẩn và dung dịch thử trong cùng một điều kiện. Tiến hành "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng và giữ ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C. Nếu chế phẩm vô trùng, bảo quản trong bao bì vô trùng, kín.

Nhãn
Trên nhãn phải ghi rõ nếu dùng để sản xuất thuốc tiêm.

Loại thuốc
Chống nấm.

Chế phẩm
Viên ngậm. Hỗn dịch uống.

VIÊN NGẬM AMPHOTERICIN
Tabellae Amphotericini

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

Hàm lượng amphotericin B, $C_{47}H_{73}NO_{17}$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Viên nén tan chậm trong miệng, thường có mùi thơm, vị ngọt.

Định tính
Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 12,5 mg amphotericin B, thêm 2,5 ml *dimethyl sulfoxid (TT)* và lắc trong 5 min. Thêm 15 ml *methanol (TT)*, lắc 10 min, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 25 ml và lọc. Pha loãng 1 ml dịch lọc này thành 100 ml bằng *methanol (TT)*. Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ 300 nm đến 450 nm phải có 3 cực đại hấp thụ ở 362 nm, 381 nm và 405 nm. Tỉ số độ hấp thụ ở bước sóng 362 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng 381 nm khoảng từ 0,5 đến 0,6. Tỉ số độ hấp thụ ở bước sóng 381 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng 405 nm khoảng 0,9.

Hàm lượng tetraen
Không được quá 13,3 % so với lượng amphotericin B ghi trên nhãn.
Dung dịch thử: Thêm vào lượng bột viên tương ứng với 37,5 mg amphotericin B 5 ml *dimethyl sulfoxid (TT)* và 25 ml *methanol (TT)*. Lắc trong 10 min, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 50 ml, lắc mạnh và lọc. Pha loãng 4 ml dung dịch lọc này với *methanol (TT)* vừa đủ 50 ml.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg amphotericin B chuẩn trong 5 ml *dimethyl sulfoxid (TT)*, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 50 ml. Pha loãng 4 ml dung dịch này với *methanol (TT)* vừa đủ 50 ml.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg nystatin chuẩn trong 25 ml *dimethyl sulfoxid (TT)*, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 250 ml. Pha loãng 4 ml dung dịch này với *methanol (TT)* vừa đủ 50 ml.
Đo lần lượt độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu (1) và (2) ở các bước sóng cực đại 282 nm và 304 nm, dùng *dung dịch dimethyl sulfoxid 0,8 % (theo thể tích) trong methanol* làm mẫu trắng.
Tính độ hấp thụ riêng A (1 %,1 cm) của chế phẩm ở cả 2 bước sóng theo kết quả hàm lượng amphotericin B tính được ở phần định lượng. Tính A (1 %, 1 cm) của nystatin chuẩn và amphotericin B chuẩn ở cả 2 bước sóng theo chế phẩm đã làm khô. Tính hàm lượng (%) tetraen trong mẫu theo công thức:

$$X = F + \frac{100(B_1S_2 - B_2S_1)}{(N_2B_1 - N_1B_2)}$$

Trong đó:
S_1 và S_2 là độ hấp thụ riêng của chế phẩm ở 282 nm và 304 nm.
N_1 và N_2 là độ hấp thụ riêng của nystatin chuẩn ở 282 nm và 304 nm.
B_1 và B_2 là độ hấp thụ riêng của amphotericin B chuẩn ở 282 nm và 304 nm.
F là hàm lượng tetraen trong amphotericin B chuẩn.

Định lượng
Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg amphotericin B, thêm 10 ml *nước*, trộn đều, thêm *dimethyl sulfoxid (TT)*

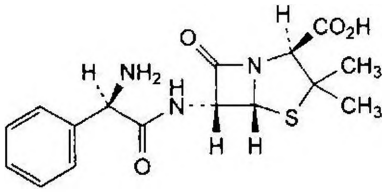
vừa đủ 100 ml, lắc 20 min và lọc. Tiến hành định lượng theo chuyên luận "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).
1000 IU tương đương với 1 mg amphotericin B.

Bảo quản
Bảo quản tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống nấm.

Hàm lượng thường dùng
10 mg.

AMPICILIN
Ampicillinum



$C_{16}H_{19}N_3O_4S$ P.t.l: 349,4

Ampicilin là acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-phenyl - acetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0]heptan-2-carboxylic, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, tính theo chế phẩm khan.
Sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình.
Hơi tan trong nước, thực tế không tan trong aceton, ethanol 96 % và dầu béo. Tan trong dung dịch acid loãng và dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ampicilin chuẩn.
B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng theo "Định tính các penicilin" (Phụ lục 8.2), dùng pha động B.
C. Chế phẩm phải cho phản ứng B trong phép thử "Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin" (Phụ lục 8. 3).
D. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Nước.

Độ trong của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, đồng thời hòa tan 1,0 g chế phẩm khác trong 10 ml *dung dịch amoniac 2 M (TT)*. Quan sát ngay sau khi hòa tan. Cả hai dung dịch trên không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2).

pH
Từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 40 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng
Từ +280° đến +305°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 62,5 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Trộn đều 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 50 ml *acetonitril (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động B: Trộn đều 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 400 ml *acetonitril (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 27,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 27,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Chuẩn bị ngay trước khi dùng.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 27,0 mg ampicilin khan chuẩn bằng pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,0 mg cefradin chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Trộn đều 5,0 ml dung dịch thu được và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1).
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (tt/tt)	Pha động B (tt/tt)
0 - t_R	85	15
t_R - (t_R + 30)	85 → 0	15 → 100
(t_R + 30) - (t_R + 45)	0	100
(t_R + 45) - (t_R + 60)	85	15

t_R = thời gian lưu của ampicilin xác định được ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).
Nếu phải điều chỉnh tỷ lệ các thành phần pha động để đạt độ phân giải yêu cầu, việc điều chỉnh này phải được thực hiện ngay tại thời điểm 0 của chương trình dung môi và ở phần Định lượng.

Tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động như thời điểm bắt đầu chương trình dung môi với dung dịch đối chiếu (2) và (3). Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi ở trên với dung dịch thử (2) và mẫu trắng là pha động A.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của ampicilin và pic của cefradin ít nhất là 3,0; nếu cần điều chỉnh tỷ lệ pha động A : B.
Giới hạn:
Tất cả các tạp chất: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6-aminopenicilanic).
Tạp chất B: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*S*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]-3.3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0] heptan-2-carboxylic (L-ampicilin).
Tạp chất C: Acid (4*S*)-2-(3,6-dioxo-5-phenylpiperazin-2-yl)-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (diketopiperazin của ampicilin).
Tạp chất D: Acid (4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino] carboxymethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic(acid peniciloic của ampicilin).
Tạp chất F: Acid (2*RS*,4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic(acid peniloic của ampicilin).
Tạp chất E: Acid (2*S*)-2-[[[(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-yl]carbonyl]amino]-2-phenylacetic (ampicilinyl-D-phenylglycin).
Tạp chất G: (3*R*,6*R*)-3,6-Diphenylpiperazin-2,5-dion.
Tạp chất H: 3-Phenylpyrazin-2-ol.
Tạp chất I: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-2phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (D-phenylglycylampicilin).
Tạp chất J: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic.
Tạp chất K: Acid (2*R*)-2-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-2-phenylacetic.
Tạp chất L: Acid (2*R*)-2-amino-2-phenylacetic (D-phenylglycin).
Tạp chất M: Các co-oligomer của ampicilin và của acid peniciloic của ampicilin.

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

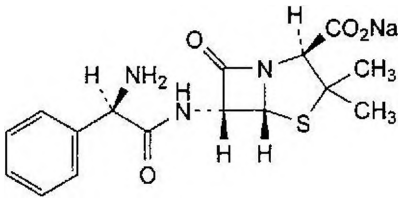
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Pha động: Tỷ lệ ban đầu của pha động A và B. Điều chỉnh nếu cần.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ampicilin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) trong 6 lần tiêm không được lớn hơn 1,0.
Tính hàm lượng của $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong ampicilin khan chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để ở nhiệt độ dưới 30 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Chế phẩm
Nang, bột pha hỗn dịch.

AMPICILIN NATRI
Ampicillinum natricum



$C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$ P.t.l: 371,4

Ampicilin natri là muối natri của acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic, phải chứa từ 91,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$, tính theo chế phẩm khan.
Sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm.
Dễ tan trong nước, hơi tan trong aceton. Thực tế không tan trong dầu béo và parafin lỏng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, khuấy đều và để yên 10 min trong nước đá. Lọc tinh thể qua phễu lọc xốp nhỏ (số độ xốp 40)

sử dụng hút chân không, rửa tủa bằng 2 ml đến 3 ml hỗn hợp *nước - aceton* (1 : 9), sấy tủa ở nhiệt độ 60 °C trong 30 min. Phổ hấp thụ hồng ngoại của tủa thu được (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ampicilin trihydrat chuẩn.

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng theo định tính các penicilin (Phụ lục 8.2).

C. Phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và các cephalosporin (Phụ lục 8.3).

D. Chế phẩm phải cho phản ứng A của phép thử ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Lấy 1,0 g chế phẩm vào 1 bình nón, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* từ từ và khuấy liên tục. Hòa tan 1,0 g chế phẩm khác trong *nước* và pha loãng thành 10 ml bằng *nước*. Quan sát ngay sau khi hòa tan. Cả hai dung dịch trên không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm trong nước đo ở bước sóng 430 nm không được lớn hơn 0,15.

pH

Từ 8,0 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml bằng cùng dung môi. Sau khi hòa tan 10 min tiến hành đo pH.

Góc quay cực riêng

Từ +258° đến +287°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 62,5 mg chế phẩm trong *dung dịch kali hydrophtalat 0,4 %* và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng dung môi và tiến hành đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Trộn đều 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 50 ml *acetonitril (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Pha động B: Trộn đều 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 400 ml *acetonitril (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 31,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 31,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 27,0 mg ampicilin khan chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,0 mg cefradin chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Trộn đều 5,0 ml dung dịch thu được và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1).

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

Dung dịch đối chiếu (4): Lấy 0,20 g chế phẩm, thêm 1,0 ml nước, làm nóng ở 60 °C trong 1 h. Pha loãng 0,5 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động A.

Điều kiện sắc ký:

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

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

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

Thời gian (min)	Pha động A (tt/tt)	Pha động B (tt/tt)
0 - t_R	85	15
t_R - (t_R + 30)	85 → 0	15 → 100
(t_R + 30) - (t_R + 45)	0	100
(t_R + 45) - (t_R + 60)	85	15

t_R = Thời gian lưu của ampicilin xác định được ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Nếu phải điều chỉnh các thành phần của pha động để đạt độ phân giải như yêu cầu thì các thành phần được điều chỉnh sẽ được áp dụng tại thời điểm ban đầu và trong định lượng.

Tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động như thời điểm bắt đầu của chương trình dung môi với dung dịch đối chiếu (2) và (3). Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi với dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (4) và mẫu trắng là pha động A.

Định tính các pic: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của ampicilin và ampicilin dimer. Thời gian lưu tương đối của ampicilin dimer so với ampicilin khoảng 2,8.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của ampicilin với pic của cefradin ít nhất là 3,0. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ pha động A : B.

Giới hạn:

Ampicilin dimer: Diện tích pic ampicilin dimer không được lớn hơn 4,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (4,5 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (2 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6-amino-penicilanic).

Tạp chất B: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*S*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2carboxylic (L-ampicilin).

Tạp chất C: Acid (4*S*)-2-(3,6-dioxo-5-phenylpiperazin-2-yl)-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (diketopiperazin của ampicilin).

Tạp chất D: Acid (4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]carboxymethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniciloic của ampicilin).
Tạp chất E: Acid (2*S*)-2-[[[(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0]hept-2-yl]carbonyl]amino]-2-phenylacetic (ampicilinyl-D-phenylglycin).
Tạp chất F: Acid (2*RS*,4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniloic của ampicilin).
Tạp chất G: (3*R*,6*R*)-3,6-Diphenylpiperazin-2,5-dion.
Tạp chất H: 3-Phenylpyrazin-2-ol.
Tạp chất I: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-2phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (D-phenylglycylampicilin).
Tạp chất J: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0]heptan-2-carboxylic.
Tạp chất K: Acid (2*R*)-2-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-2-phenylacetic.
Tạp chất L: Acid (2*R*)-2-amino-2-phenylacetic (D-phenylglycin).
Tạp chất M: Các co-oligomer của ampicilin và acid peniciloic của ampicilin.
Tạp chất N: Các oligomer của acid peniciloic của ampicilin.

N,N- Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic
Không được quá 0,8 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Methylen clorid
Không được quá 0,2 % (kl/kl).
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 1,0 ml *ethylen clorid (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 500,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 1,0 ml *methylen clorid (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 500,0 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước*, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột thủy tinh (1,5 m × 4 mm) được nhồi *diatomit dùng cho sắc ký khí (TT)* đã được tẩm 10 % (kl/kl) *polyethylen glycol 1000 (TT)*.
Khí mang là *nitrogen dùng cho sắc ký khí (TT)*, lưu lượng 40 ml/min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ: Cột ở 60 °C, buồng tiêm ở 100 °C, detector ở 150 °C.
Lấy tỉ trọng của methylen clorid ở 20 °C là 1,325 g/ml để tính hàm lượng.

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

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,15 EU/mg (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không có biện pháp hữu hiệu để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải thử chỉ tiêu này.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Pha động: Tỷ lệ ban đầu của pha động A và B. Điều chỉnh nếu cần.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ampicilin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) trong 6 lần tiêm không được lớn hơn 1,0.
Tính hàm lượng của $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong ampicilin khan chuẩn.
Hàm lượng phần trăm của ampicilin natri bằng hàm lượng phần trăm của ampicilin ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) nhân với 1,063.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Nếu chế phẩm vô trùng thì bảo quản trong bao bì vô trùng, kín.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM AMPICILIN
Ampicillini pro injectione

Bột pha tiêm ampicilin là bột kết tinh vô khuẩn của ampicilin natri đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với nước vô khuẩn để tiêm ngay trước khi dùng.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, phải đạt từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, tan trong nước.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A và C.
Nhóm II: B, C và D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ampicilin natri chuẩn.
Nếu phổ không phù hợp thì thực hiện như sau: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 0,25 g ampicilin trong 5 ml *nước*, thêm 0,5 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*, trộn đều và để yên 10 min trong nước lạnh. Lọc qua phễu thủy tinh xốp số 3, rửa cắn với 2 ml đến 3 ml hỗn hợp 9 thể tích *aceton (TT)* và 1 thể tích *nước*, làm khô cắn ở 60 °C trong 30 min và đo phổ hồng ngoại. Phổ hồng ngoại của cắn phải phù hợp với phổ hồng ngoại chuẩn của ampicilin trihydrat.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng thời gian lưu với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Chế phẩm phải có phản ứng đặc trưng của natri (Phụ lục 8.1).
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng acid acetic băng* (10 : 90).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 25 mg ampicilin natri trong 10 ml *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch ampicilin trihydrat chuẩn 0,25 % pha trong *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa 0,25 % ampicilin trihydrat chuẩn và 0,25 % amoxicilin trihydrat chuẩn, pha trong *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, đặt bản mỏng vào bình có hơi iod đến khi xuất hiện các vết, quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ thu được, vết chính của dung dịch thử và vết chính của dung dịch đối chiếu (1) phải giống nhau về vị trí, màu sắc và hình dạng. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách biệt nhau rõ ràng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, lắc kỹ (dung dịch A).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* vừa đủ 10 ml (dung dịch B).
Cả hai dung dịch đều phải trong. Nếu dung dịch đục thì không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2).
Độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch B ở bước sóng 430 nm không được quá 0,15.

Giới hạn acid - kiềm
Dung dịch chế phẩm 10 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* có pH từ 8,0 đến 10,0. Đo trong vòng 10 min sau khi pha dung dịch (Phụ lục 6.2).

Nước
Không được quá 2 % (Phụ lục 10.3). Dùng 0,3 g bột thuốc.

Chất hấp thụ iod
Hòa tan khoảng 0,100 g chế phẩm trong 20 ml nước, thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và 25,0 ml *dung dịch iod 0,02 N (CĐ)*. Định lượng ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.
Song song làm mẫu trắng trong cùng điều kiện. Hiệu số giữa hai lần chuẩn độ biểu thị lượng chất hấp thụ iod có mặt.
1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CĐ)* tương ứng với 0,7392 mg chất hấp thụ iod. Tính tỷ lệ phần trăm chất hấp thụ iod trong mẫu thử. Tổng tỷ lệ phần trăm chất hấp thụ iod và tỷ lệ phần trăm ampicilin natri (cả hai loại đều tính theo chất khan) không được ít hơn 97,5 %.
1 mg $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ được xác định ở mục Định lượng tương đương với 1,063 mg ampicilin natri, $C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$.

Nội độc tố vi khuẩn
Tiến hành thử theo chuyên luận "Phép thử nội độc tố vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).
Hòa tan một lượng chế phẩm trong *nước BET (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ ampicilin 9,5 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 1,5 EU/ml. Giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Nước - acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 1 M - dung dịch acid acetic 1 M (909 : 80 : 10 : 1).
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ, tính khối lượng trung bình của thuốc trong một đơn vị chế phẩm, trộn đều. Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 50 mg ampicilin vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động, lắc cho tan, pha loãng bằng pha động đến vạch, lắc đều và lọc. Hút 10,0 ml dịch lọc, pha loãng thành 50,0 ml với pha động.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg ampicilin chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động, lắc cho tan, pha loãng bằng pha động đến vạch, lắc đều và lọc. Hút 10,0 ml dịch lọc, pha loãng thành 50,0 ml với pha động.
Dung dịch phân giải: Dung dịch có nồng độ ampicilin chuẩn 200 mg/ml và cefradin chuẩn 20 mg/ml pha trong pha động.

Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Hypersil ODS là thích hợp).
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch phân giải và điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của các pic ít nhất bằng nửa thang đo. Thử nghiệm chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa 2 pic ampicilin và cefradrin không nhỏ hơn 3,0. Nếu cần, có thể điều chỉnh thành phần pha động để đạt điều kiện trên. Thử nghiệm chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của 6 lần tiêm dung dịch chuẩn nhỏ hơn 2,0 %.
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong ampicilin chuẩn.

Bảo quản
Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 25 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
500 mg, 1000 mg.

BỘT PHA TIÊM AMPICILIN VÀ SULBACTAM
Ampicillini et Sulbactami pulvis ad injectionem

Là hỗn hợp bột khô vô khuẩn của ampicilin natri và sulbactam natri để pha thuốc tiêm.
Tỷ lệ hàm lượng trên nhãn giữa ampicilin và sulbactam là 2 : 1.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng sulbactam, $C_8H_{11}NO_5S$, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.
Bột pha tiêm ampicilin và sulbactam phải chứa không ít hơn 563 µg ampicilin và 280 µg sulbactam trong 1 mg chế phẩm, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc gần như trắng.

Định tính
Trong mục Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho 2 pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của ampicilin và sulbactam trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH
Dung dịch chứa 10 mg ampicilin và 5 mg sulbactam trong 1 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* phải có pH từ 8,0 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)
Không được quá 0,17 EU trong 1 mg hỗn hợp ampicilin và sulbactam (tương ứng với 0,67 mg ampicilin và 0,33 mg sulbactam).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,005 M - acetonitril (1650 : 350), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,005 M: Pha loãng 6,6 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 40 %* với *nước* để có 1800 ml dung dịch. Điều chỉnh pH dung dịch đến 5,0 ± 0,1 bằng *dung dịch acid phosphoric 1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 2000 ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng ampicilin chuẩn và sulbactam chuẩn, hòa tan với pha động trong bình định mức phù hợp để thu được dung dịch có nồng độ ampicilin là 0,6 mg/ml và nồng độ của sulbactam là 0,3 mg/ml, dung dịch dùng ngay sau khi pha.
Dung dịch phân giải: Pha dung dịch sulbactam chuẩn có nồng độ 0,3 mg/ml trong *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M*, để yên dung dịch này trong 30 min. Điều chỉnh pH của dung dịch này đến 5,0 ± 0,1 bằng *dung dịch acid phosphoric 1 M (TT)*. Hút 5 ml dung dịch thu được chuyển vào bình định mức 25 ml, thêm 4,25 ml *acetonitril (TT)* và thêm *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,005 M* vừa đủ thể tích. Hút 1 ml dung dịch thu được chuyển vào bình định mức 25 ml, thêm 15 mg ampicilin chuẩn và thêm pha động vừa đủ thể tích, lắc đều. Dung dịch dùng ngay sau khi pha.
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong một lọ. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 60 mg ampicilin và 30 mg sulbactam vào bình định mức 100 ml. Thêm 70 ml pha động, lắc để hòa tan và thêm pha động vừa đủ thể tích, lắc đều. Dung dịch dùng ngay sau khi pha.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối của ampicilin là khoảng 0,7 và của sản phẩm

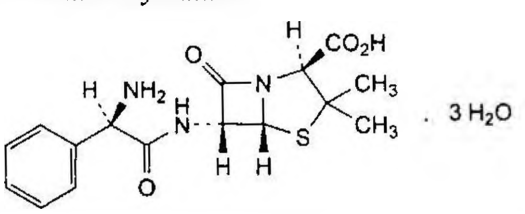
phân hủy của sulbactam trong kiềm là 1,0. Độ phân giải giữa pic ampicilin và pic sản phẩm phân hủy của sulbactam trong kiềm không nhỏ hơn 4,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối của ampicilin là khoảng 0,35 và của sulbactam là 1,0. Hiệu lực cột xác định trên pic sulbactam không ít hơn 3500 đĩa lý thuyết, hệ số đối xứng không lớn hơn 1,5 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, và sulbactam, $C_8H_{11}NO_5S$, trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ của ampicilin và $C_8H_{11}NO_5S$ của sulbactam chuẩn.

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

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
Ampicilin 1 g; sulbactam 0,5 g (lọ 1,5 g).
Ampicilin 2 g; sulbactam 1 g (lọ 3 g).

AMPICILIN TRIHYDRAT
Ampicillinum trihydratum



$C_{16}H_{19}N_3O_4S.\ 3H_2O$ P.t.l: 403,5

Ampicilin trihydrat là acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic trihydrat, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, tính theo chế phẩm khan.
Sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng.
Hơi tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 % và dầu béo. Tan trong dung dịch acid loãng và dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ampicilin trihydrat chuẩn.
B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng theo "Định tính các penicilin" (Phụ lục 8.2), dùng pha động B.
C. Chế phẩm phải cho phản ứng B trong phép thử "Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin" (Phụ lục 8.3).
D. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Nước.

Độ trong của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, đồng thời hòa tan 1,0 g chế phẩm khác trong 10 ml *dung dịch amoniac 2 M (TT)*. Quan sát ngay sau khi hòa tan. Cả hai dung dịch trên không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2).

pH
Từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 40 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng
Từ +280° đến +305°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 62,5 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Trộn đều 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 50 ml *acetonitril (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động B: Trộn đều 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 400 ml *acetonitril (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 31,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 31,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Chuẩn bị ngay trước khi dùng.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 27,0 mg ampicilin khan chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,0 mg cefradin chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Trộn đều 5,0 ml dung dịch thu được và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1).
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (tt/tt)	Pha động B (tt/tt)
0 - t_R	85	15
t_R - (t_R + 30)	85 → 0	15 → 100
(t_R + 30) - (t_R + 45)	0	100
(t_R + 45) - (t_R + 60)	85	15

t_R = thời gian lưu của ampicilin xác định được ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Nếu phải điều chỉnh tỷ lệ các thành phần pha động để đạt độ phân giải yêu cầu thì việc điều chỉnh này phải được thực hiện ngay tại thời điểm 0 của chương trình dung môi và ở phần Định lượng.

Tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động như thời điểm bắt đầu của chương trình dung môi với dung dịch đối chiếu (2) và (3). Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi ở trên với dung dịch thử (2) và mẫu trắng là pha động A.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của ampicilin với pic của cefradin ít nhất là 3,0; nếu cần điều chỉnh tỷ lệ pha động A : B.

Giới hạn:

Tất cả các tạp chất: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6-amino-penicilanic).

Tạp chất B: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*S*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (L-ampicilin).

Tạp chất C: Acid (4*S*)-2-(3,6-dioxo-5-phenylpiperazin-2-yl)-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (diketopiperazin của ampicilin).

Tạp chất D: Acid (4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]carboxymethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid penicilloic của ampicilin).

Tạp chất F: Acid (2*RS*,4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniloic của ampicilin).

Tạp chất E: Acid (2*S*)-2-[[[(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-yl]carbonyl]amino]-2-phenylacetic (ampicilinyl-D-phenylglycin).

Tạp chất G: (3*R*,6*R*)-3,6-Diphenylpiperazin-2,5-dion.

Tạp chất H: 3-Phenylpyrazin-2-ol.

Tạp chất I: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-2phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (D-phenylglycylampicilin).

Tạp chất J: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2,2-dimethylpropanoyl) amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0]heptan-2-carboxylic.

Tạp chất K: Acid (2*R*)-2-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-2-phenylacetic.

Tạp chất L: Acid (2*R*)-2-amino-2-phenylacetic (D-phenylglycin).

Tạp chất M: Các co-oligomer của ampicilin và của acid peniciloic của ampicilin.

N,N- Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Nước

Từ 12,0 % đến 15,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,100 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Pha động: Tỷ lệ ban đầu của pha động A và B. Điều chỉnh nếu cần.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1).

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ampicilin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) thu được từ 6 lần tiêm không được lớn hơn 1,0.

Tính hàm lượng của $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong ampicilin khan chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để ở nhiệt độ dưới 30 °C.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Chế phẩm

Nang, viên nén, bột pha hỗn dịch.

NANG AMPICILIN

Capsulae Ampicillini

Là nang cứng có chứa ampicilin khan hoặc ampicilin trihydrat.

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

Hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lấy một lượng bột thuốc đã nghiền mịn tương ứng khoảng 10 mg ampicilin, thêm 10 ml *nước*, lắc kỹ, lọc. Thêm vào dịch lọc 2 ml *thuốc thử Fehling (TT)*, xuất hiện ngay màu tím đỏ.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 %* được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *acid acetic băng* (10 : 90).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng 125 mg ampicilin với 50 ml *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch ampicilin trihydrat chuẩn 0,25 % pha trong *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa 0,25 % ampicilin trihydrat chuẩn và 0,25 % amoxicilin trihydrat chuẩn, pha trong *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, đặt bản mỏng vào bình có hơi iod đến khi xuất hiện các vết, quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ thu được, vết chính của dung dịch thử và vết chính của dung dịch đối chiếu (1) phải giống nhau về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách biệt nhau rõ ràng.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch chuẩn và *điều kiện sắc ký* thực hiện như trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác một thể tích dịch lọc, pha trong pha động A để có nồng độ ampicilin chính xác khoảng 0,006 %.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Mất khối lượng do làm khô
Cân chính xác khoảng 500 mg bột thuốc, sấy trong chân không dưới áp suất 5 mmHg ở 60 °C trong 3 h.
Lượng mất đi phải từ 10,0 % đến 15,0 % khi chế phẩm chứa ampicilin trihydrat. Lượng mất đi không được lớn hơn 4 % khi chế phẩm chứa ampicilin khan.

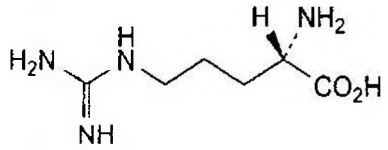
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Hỗn hợp gồm 1 thể tích *dung dịch acid acetic 10 % (TT)*, 100 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)*, 100 thể tích *acetonitril (TT)* và *nước* vừa đủ 2000 thể tích.
Pha động B: Hỗn hợp gồm 1 thể tích *dung dịch acid acetic 10 % (TT)*, 100 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)*, 800 thể tích *acetonitril (TT)* và *nước* vừa đủ 2000 thể tích.
Pha động: Pha động A - pha động B (85 : 15).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch ampicilin chuẩn 0,006 % trong pha động A.
Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa 0,025 % ampicilin chuẩn và 0,002 % cefradin chuẩn, pha trong pha động A.
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 20 nang, tính khối lượng trung bình, trộn đều và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột tương ứng với 60 mg ampicilin, lắc trong 15 min với 80 ml pha động A rồi thêm pha động A đến vừa đủ thể tích 100,0 ml. Lọc, lấy 5,0 ml dịch lọc pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Nucleosil C18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic ampicilin và pic cefradin phải không nhỏ hơn 3,0; có thể điều chỉnh thành phần pha động để đạt yêu cầu trên.
Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, trong viên từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong ampicilin chuẩn.

Bảo quản
Để nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg, tính theo ampicilin khan.

ARGININ
Argininum



$C_6H_{14}N_4O_2$ P.t.l: 174,2

Arginin là acid (*S*)-2-amino-5-guanidinopentanoic, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_6H_{14}N_4O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng hay tinh thể không màu. Dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của arginin chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dưới dạng đĩa nén.
B. Trong phần Các chất dương tính với ninhydrin, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.
D. Dung dịch S phải có pH lớn hơn 10 (Phụ lục 6.2).
E. Hòa tan khoảng 25 mg chế phẩm trong 2 ml *nước*. Thêm 1 ml *dung dịch α-naphthol (TT)* và 2 ml hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch natri hypoclorit (TT)* và *nước*, sẽ xuất hiện màu đỏ.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng
Từ +25,5° đến +28,5°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Các chất dương tính với ninhydrin
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Amoniac - 2-propanol (30 : 70).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 50 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg arginin chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg arginin chuẩn và 10 mg lysin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C đến khi amoniac bay hơi hết. *Phun dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)* và sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được có màu đậm hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho hai vết tách biệt rõ ràng.

Clorid
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).
Lấy 5 ml dung dịch S, thêm 0,5 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và pha loãng bằng *nước* thành 15 ml để tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).
Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 1,7 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng bằng *nước cất* thành 15 ml để tiến hành thử.

Amoni
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.1).
Lấy 50 mg chế phẩm tiến hành theo phương pháp B. Dùng 0,1 ml *dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4 (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Chiết 3 lần, mỗi lần với 10 ml *methyl isobutyl keton (TT_1)* và lắc trong 3 min. Tập trung dịch chiết hữu cơ, thêm 10 ml *nước*, lắc 3 min. Lấy lớp nước và tiến hành thử.

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

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

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

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 50 ml *nước* và chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)*, dùng 0,2 ml *dung dịch hỗn hợp đỏ methyl (TT)* làm chỉ thị, đến khi màu chuyển từ xanh lục sang đỏ tím.
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)* tương đương với 17,42 mg $C_6H_{14}N_4O_2$.

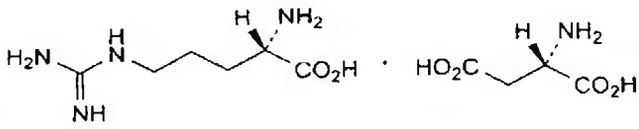
Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Acid amin.

Chế phẩm
Nang.

ARGININ ASPARTAT

Arginini aspartas



$C_6H_{14}N_4O_2.C_4H_7NO_4$ P.t.l: 307,3

Arginin aspartat là acid (2*S*)-2-amino-5-guanidino pentanoic (2*S*)-2-aminobutandioat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_6H_{14}N_4O_2.C_4H_7NO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột hay cốm màu trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 % và methylen clorid.

Định tính

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

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

C. Trong phần Các chất dương tính với ninhydrin, 2 vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với 2 vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V_7 (Phụ lục 9.3), phương pháp 2).

pH

Từ 6,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch S để đo.

Góc quay cực riêng

Từ +25° đến +27°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Các chất dương tính với ninhydrin

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac - propanol (36 : 64).

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

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg *arginin (TT)* và 25 mg *acid aspartic (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 50 ml bằng *nước*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được 2/3 chiều dài bản mỏng. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)* và sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào ngoài 2 vết chính không được có màu đậm hơn màu của mỗi vết chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách biệt rõ ràng.

Clorid

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

Lấy 2,5 ml dung dịch S và pha loãng thành 15 ml bằng *nước* để tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).

Cân 0,5 g chế phẩm, thêm 2,5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 15 ml bằng *nước cất*. Sau 30 min tiến hành thử.

Amoni

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.1).

Dùng 100 mg chế phẩm.

Kim loại nặng

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

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

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 60 °C; 24 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong 2 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). 1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 10,24 mg $C_{10}H_{21}N_5O_6$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

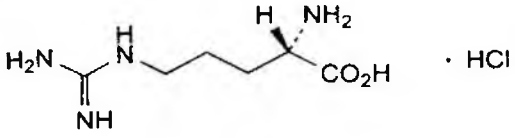
Acid amin.

Chế phẩm

Nang.

ARGININ HYDROCLORID

Arginini hydrochloridum



$C_6H_{14}N_4O_2.HCl$ P.t.l: 210,7

Arginin hydroclorid là acid (*S*)-2-amino-5-guanidino pentanoic hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_6H_{14}N_4O_2.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng hoặc tinh thể không màu. Dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

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

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

C. Trong phần Các chất dương tính với ninhydrin, vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1).

D. Hòa tan khoảng 25 mg chế phẩm trong 2 ml *nước*. Thêm 1 ml *dung dịch α-naphtol (TT)* và thêm 2 ml hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch natri hypoclorit mạnh (3 % Cl) (TT)* và *nước*. Màu đỏ xuất hiện.

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước cất* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ +21,0° đến +23,5°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Các chất dương tính với ninhydrin

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac - 2-propanol (30 : 70).

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

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 50 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg arginin hydroclorid chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg arginin hydroclorid chuẩn và 10 mg lysin hydroclorid chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, làm khô bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C cho đến khi hết amoniac. Phun lên bản mỏng *dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)* và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được đậm màu hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) cho hai vết tách biệt rõ ràng.

Sulfat

Không được quá 300 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).

Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước cất* và tiến hành thử.

Amoni

Không được quá 200 phần triệu (Phụ lục 9.4.1).

Dùng 50 mg chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp B. Dùng 0,1 ml *dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4 (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Trong một bình gạn, hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Chiết hỗn hợp trên 3 lần, mỗi lần lắc với 10 ml *4-methylpentan-2-on (TT_1)* trong 3 min, gạn lấy lớp dung môi hữu cơ ở trên. Tập trung dịch chiết 4-methylpentan-2-on vào một bình gạn khác, thêm *10 ml nước* và lắc trong 3 min. Gạn lấy lớp nước để tiến hành thử.

Kim loại nặng

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

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

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 105 °C).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6). Hòa tan 0,180 g chế phẩm trong 3 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 30 ml *acid acetic khan (TT)*. Dùng 0,1 ml *dung dịch naphtholbenzein* làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* cho đến khi màu chuyển từ vàng nâu sang xanh lục. Song song tiến hành làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 21,07 mg $C_6H_{15}ClN_4O_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Acid amin, chất dinh dưỡng.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm truyền, hỗn dịch uống.

NANG ARGININ
Capsulae Arginini

Là nang cứng chứa arginin hoặc arginin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng arginin, $C_6H_{14}N_4O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic arginin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Isopropanol - amoniac (7 : 3).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 150 mg arginin, thêm 80 ml *nước* và lắc siêu âm trong 15 min, thêm *nước* vừa đủ 100 ml, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch arginin chuẩn hoặc arginin hydroclorid chuẩn có nồng độ arginin 1,5 mg/ml trong *nước.*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, sấy ở 105 °C cho đến khi không còn amoniac. Phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % trong hỗn hợp butanol - dung dịch acid acetic 2 M* (95 : 5), tiếp tục sấy ở 105 °C trong 15 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động và điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng arginin hoặc arginin hydroclorid chuẩn, hòa tan trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ arginin tương đương với nồng độ arginin của dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng arginin, $C_6H_{14}N_4O_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

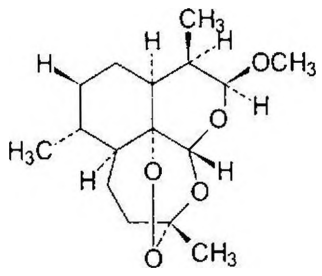
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Dung dịch *natri dihydrophosphat (TT)* 0,69 % trong *nước*, chỉnh đến pH 3,5 bằng *acid phosphoric (TT).*
Dung dịch A: Dung dịch *natri octansulfonat (TT)* 0,05 % trong dung dịch đệm.
Pha động: Dung dịch A - acetonitril (95 : 5).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng arginin chuẩn hoặc arginin hydroclorid chuẩn trong dung dịch đệm để thu được dung dịch có nồng độ arginin khoảng 1,5 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, xác định khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 150 mg arginin vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml dung dịch đệm và lắc siêu âm trong 15 min, thêm dung dịch đệm đến định mức, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết phải không nhỏ hơn 1500, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic arginin từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng arginin, $C_6H_{14}N_4O_2$, có trong nang dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_6H_{14}N_4O_2$ của arginin chuẩn hoặc hàm lượng $C_6H_{14}N_4O_2.HCl$ của arginin hydroclorid chuẩn. Hệ số chuyển đổi từ arginin hydroclorid sang arginin là 0,8269.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Acid amin.

Hàm lượng thường dùng
200 mg, 400 mg, 500 mg.

ARTEMETHER
Artemetherum



$C_{16}H_{26}O_5$ P.t.l: 298,4

Artemether là (3*R*,5a*S*,6*R*,8a*S*,9*R*,10*S*,12*R*,12a*R*)-decahydro-10-methoxy-3,6,9-trimethyl-3,12-epoxy-12*H*-pyrano[4,3-*j*]-1,2-benzodioxepin, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{26}O_5$ tính theo chế phẩm đã làm khô khi định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng; từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{26}O_5$ tính theo chế phẩm đã làm khô khi định lượng bằng phương pháp quang phổ.

Tính chất
Tinh thể màu trắng hoặc bột kết tinh màu trắng.
Dễ tan trong ethyl acetat và ethanol, rất tan trong dicloromethan và aceton, thực tế không tan trong nước.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của artemether chuẩn hoặc phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của artemether.
B. Trong phần Tạp chất liên quan bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương ứng về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3). Hoặc trong phần Định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính tương ứng về thời gian lưu với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Lấy khoảng 30 mg chế phẩm, thêm khoảng 1 ml *ethanol (TT)* và khoảng 0,1 g *kali iodid (TT)*. Đun nóng hỗn hợp trên cách thủy, sẽ tạo thành màu vàng.
D. Hòa tan 30 mg chế phẩm trong 6 ml *ethanol (TT)*. Nhỏ vài giọt dung dịch thu được lên một khay sứ màu trắng, thêm một giọt *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)*, sẽ xuất hiện màu hồng.

Khoảng nóng chảy
Từ 86,0 °C đến 90,0 °C (Phụ lục 6.7).

Góc quay cực riêng
Từ +166° đến +173°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch chế phẩm có nồng độ 10 mg/ml trong *ethanol (TT)*.

Tạp chất liên quan
Có thể áp dụng một trong hai phương pháp.
A. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng (Phương pháp A).
Dung dịch thử: Hòa tan 100,0 mg chế phẩm trong vừa đủ 10,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng pha động.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (0,5 %). Không được quá một pic phụ có diện tích pic lớn hơn một nửa diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (0,25 %) và tổng diện tích của tất cả các pic phụ trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn hai lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %). Loại bỏ các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) - ethyl acetat (7 : 3).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 100,0 mg chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 200,0 ml bằng *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg artemether chuẩn trong vừa đủ 100 ml *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl các dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí. Phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)* và kiểm tra các vết dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %) và không được có quá một vết phụ đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; áp suất không quá 2,67 kPa; phosphor pentoxyd).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Có thể áp dụng một trong hai phương pháp.
A. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - nước* (62 : 38).
Dung dịch thử: Hòa tan khoảng 100,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan khoảng 100,0 mg artemether chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 216 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính toán hàm lượng của $C_{16}H_{26}O_5$ dựa vào diện tích pic đáp ứng trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
B. Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1).
Cân chính xác khoảng 0,050 g chế phẩm, hòa tan trong vừa đủ 100,0 ml *ethanol (TT)*. Hút chính xác 2,0 ml dung dịch thu được cho vào bình định mức dung tích 100,0 ml; thêm *dung dịch acid hydrocloric 1 M trong ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch. Đậy kín bình và để trong cách thủy ở 55 °C trong 5 h, làm nguội đến nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ của dung dịch này tại bước sóng cực đại khoảng 254 nm trong cốc đo có bề dày 1 cm.
Tính toán hàm lượng $C_{16}H_{26}O_5$ bằng cách so sánh với độ hấp thụ của dung dịch chuẩn được chuẩn bị như dung dịch thử.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng và ở nhiệt độ mát.

Loại thuốc
Kháng ký sinh trùng sốt rét.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, nang.

NANG ARTEMETHER
Capsulae Artemetheri

Là nang cứng chứa artemether.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 80 mg artemether, thêm 10 ml *ethanol (TT)*, lắc kỹ khoảng 5 đến 10 min, lọc (dịch lọc A). Lấy 3 ml dịch lọc A, thêm 0,1 g *kali iodid (TT)*, lắc cho tan và đun trong nồi cách thủy, xuất hiện màu vàng nhạt.
B. Lấy vài giọt dịch lọc A cho vào chén sứ trắng, thêm 1 giọt *dung dịch anisaldehyd 1 % trong acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu hồng.
C. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic artemether trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Hệ dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa (khoảng sôi 40 °C đến 60 °C) - ethyl acetat* (7 : 3).
Dung dịch thử: Cân một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg artemether, thêm 5 ml *aceton (TT)*, lắc 10 phút, lọc. Sử dụng dịch lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích với *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 thể tích dung dịch đối chiếu (1) thành 10 thể tích với *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)* và quan sát dưới ánh sáng ban ngày.
Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Ngoài ra, chỉ được có một vết đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 500 ml *nước* đối với nang 40 mg và 1000 ml đối với nang 100 mg.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min.
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Lấy 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 25 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 1 M trong ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 40 mg artemether chuẩn vào bình định mức 200 ml, hòa tan với *ethanol (TT)*, thêm *ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức 50 ml, thêm 5 ml *nước* và pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 1 M trong ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Làm nóng dung dịch thử và dung dịch chuẩn trong nồi cách thủy ở nhiệt độ 70 °C ± 1 °C trong 90 min. Làm nguội tới nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 254 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 1 M*

trong ethanol (TT) làm mẫu trắng. Dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{16}H_{26}O_5$ của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, đã hòa tan trong mỗi nang.
Yêu cầu: Không được ít hơn 65 % (Q) lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước (55 : 45).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch artemether chuẩn trong pha động, có nồng độ chính xác khoảng 4 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg artemether vào bình định mức 25 ml, thêm 20 ml pha động, lắc siêu âm 10 min, làm nguội, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Dùng dịch lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, trong nang dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic artemether trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ $C_{16}H_{26}O_5$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng
40 mg; 100 mg.

VIÊN NÉN ARTEMETHER
Tabellae Artemetheri

Là viên nén chứa artemether
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:
Hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 80 mg artemether, thêm 10 ml *ethanol (TT)*, lắc kỹ khoảng 5 đến 10 min, lọc (dịch lọc A). Lấy 3 ml dịch lọc A, thêm 0,1 g *kali iodid (TT)*, lắc cho tan và đun trong nồi cách thủy, xuất hiện màu vàng nhạt.
B. Lấy vài giọt dịch lọc A cho vào chén sứ trắng, thêm 1 giọt *dung dịch anisaldehyd 1 % trong acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu hồng.
C. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic artemether trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Hệ dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa (khoảng sôi 40 °C đến 60 °C) - ethyl acetat* (7 : 3).
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg artemether, thêm 5 ml *aceton (TT)*, lắc 10 min, lọc. Sử dụng dịch lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích với *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 thể tích dung dịch đối chiếu (1) thành 10 thể tích với *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)* và quan sát dưới ánh sáng ban ngày.
Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Ngoài ra, chỉ được có một vết đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 500 ml *nước* đối với nang 40 mg và 1000 ml đối với nang 100 mg.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min.
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Lấy 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 25 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 1 M trong ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 40 mg artemether chuẩn vào bình định mức 200 ml, hòa tan với *ethanol (TT)*, thêm *ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức 50 ml, thêm 5 ml *nước* và pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 1 M trong ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Làm nóng dung dịch thử và dung dịch chuẩn trong cách thủy ở nhiệt độ 70 °C ± 1 °C trong 90 min. Làm nguội tới nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 254 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 1 M trong ethanol (TT)* làm mẫu trắng. Dựa vào độ hấp thụ

đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{16}H_{26}O_5$ của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, đã hòa tan trong mỗi nang.
Yêu cầu: Không được ít hơn 65 % (Q) lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước (55 : 45).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch artemether chuẩn trong pha động, có nồng độ chính xác khoảng 4 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg artemether vào bình định mức 25 ml, thêm 20 ml pha động, siêu âm 10 min, làm nguội, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Dùng dịch lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic artemether trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ $C_{16}H_{26}O_5$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng
40 mg; 100 mg.

VIÊN NÉN ARTEMETHER VÀ LUMEFANTRIN
Tabellae Artemetheri et Lumefantrini

Là viên nén chứa artemether và lumefantrin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, và **lumefantrin,** $C_{30}H_{32}Cl_3NO$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (40 °C - 60 °C) - ethyl acetat - acid acetic băng (40 : 10 : 5).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg artemether (khoảng 60 mg lumefantrin) với 10 ml *aceton (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chứa 1 mg artemether và 6 mg lumefantrin trong 1 ml *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 3/4 bản mỏng, làm khô ngay bản mỏng bằng một luồng khí mát. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 254 nm, sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết chính tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, kích thước và màu sắc (định tính lumefantrin). Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric 10 % trong methanol (TT)* và sấy ở 140 °C trong 10 min, quan sát dưới ánh sáng ban ngày, sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết chính tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, kích thước, màu sắc (định tính artemether, có thể thấy vết rất nhạt của lumefantrin).
B. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải có hai pic chính tương ứng với pic artemether và pic lumefantrin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn hỗn hợp.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (khoảng sôi 40 °C đến 60 °C) - ethyl acetat - acid acetic băng (40 : 10 : 5).
Hỗn hợp dung môi: Nước - acetonitril (1 : 1).
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 100 mg artemether, thêm 20 ml hỗn hợp dung môi, lắc siêu âm trong 15 min và ly tâm, lấy dịch trong lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg artemether chuẩn, 5 mg artenimol chuẩn và 5 mg α-artemether chuẩn trong 50 ml hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 3,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 2 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (6): Pha loãng 3,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 4 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2), (3), (4), (5) và (6). Làm khô vết chấm bằng một luồng khí mát. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Làm khô bản mỏng bằng một luồng khí mát. Phun *dung dịch vanilin trong ethanol 96 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 140 °C trong 10 min. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày, giá trị R_f của artemether và các tạp chất như sau: tạp chất A khoảng 0,25; tạp chất B (artenimol) khoảng 0,3; tạp chất C khoảng 0,35; tạp chất D (α-artemether) khoảng 0,4; artemether

khoảng 0,55. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 3 vết tách rõ rệt.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Vết tương ứng với tạp chất A không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (1,5 %).
Vết tương ứng với tạp chất B không được đậm hơn vết artenimol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (1,0 %).
Vết tương ứng với tạp chất C không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch (4) (0,5 %).
Vết tương ứng với tạp chất D không được đậm hơn vết α-artemether trên sắc ký đồ của dung dịch (3) (0,3 %).
Bất kỳ vết phụ nào khác không được đậm hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Bỏ qua các vết ở vạch chấm sắc ký.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Artemether
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min và 180 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Pha động: Acetonitril - nước - 1-propanol - acid trifluoroacetic (500 : 400 : 100 : 1).
Dung dịch thử: Hút 10 ml dịch hòa tan thời điểm 60 min và khoảng 20 ml dịch hòa tan thời điểm sau 180 min hòa tan, lọc. Sau khi rút dịch hòa tan ở thời điểm 60 min phải bù đủ lại lượng dung môi đã lấy ra.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg artemether chuẩn và chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *acetonitril (TT)* và lắc để hòa tan, thêm *nước* đến vạch. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 100 µl.
Tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %. Hệ số đối xứng của pic chính không lớn hơn 2.
Tính lượng artemether hòa tan trong mỗi viên từ diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{26}O_5$ trong artemether chuẩn.
Yêu cầu:
Không ít hơn 45 % (Q) lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hoà tan trong 60 min.
Không ít hơn 65 % (Q) lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hoà tan trong 180 min.
Lumefantrin
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* chứa 1 % *benzalkonium clorid (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 25,0 ml bằng môi trường hòa tan.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 24 mg lumefantrin chuẩn và chuyển vào bình định mức 200 ml, thêm 20 ml hỗn hợp *2-propanol - tetrahydrofuran* (3 : 2), hòa tan bằng cách làm nóng trong cách thủy ở 60 °C, lắc siêu âm nếu cần. Để nguội và thêm môi trường hòa tan vừa đủ đến vạch, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng môi trường hòa tan.
Đo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử ở bước sóng 342 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính hàm lượng lumefantrin, $C_{30}H_{32}Cl_3NO$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{30}H_{32}Cl_3NO$ trong lumefantrin chuẩn.
Không ít hơn 60 % (Q) lượng lumefantrin, $C_{30}H_{32}Cl_3NO$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Dung dịch tạo cặp ion - acetonitril (700 : 300).
Pha động B: *Dung dịch tạo cặp ion - acetonitril* (300 : 700).
Dung dịch tạo cặp ion: Hòa tan 5,65 g *natri hexansulfonat (TT)* và 2,75 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, chỉnh pH dung dịch đến 2,3 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*. Thêm *nước* vừa đủ 1000 ml, lọc.
Dung môi pha mẫu: Trộn đều 200 ml dung dịch tạo cặp ion, 60 ml *nước*, 200 ml *propanol (TT)*, thêm *acetonitril (TT)* vừa đủ 1000 ml, trộn đều.
Dung dịch chuẩn gốc artemether: Cân chính xác khoảng 50 mg artemether chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm dung môi pha mẫu, lắc để hòa tan, pha loãng đến định mức bằng cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn hỗn hợp: Cân chính xác khoảng 60 mg lumefantrin vào bình định mức 100 ml, thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn gốc artemether và 75 ml dung môi pha mẫu và lắc siêu âm đến khi hòa tan hoàn toàn. Để nguội và thêm dung môi pha mẫu đến vạch, lắc đều.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 10 mg artemether (khoảng 60 mg lumefantrin) vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 85 ml dung môi pha mẫu và lắc siêu âm 20 min. Để nguội, thêm dung môi pha mẫu đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại, từ 0 đến 28 min đặt ở bước sóng 210 nm, từ 28 min đặt ở bước sóng 380 nm.

Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Điều kiện rửa giải
0 - 28	60	40	Đẳng dòng
28 - 29	60 → 0	40 → 100	Gradient tuyến tính
29 - 45	0	100	Đẳng dòng
45 - 46	0 → 60	100 → 40	Gradient tuyến tính
46 - 55	60	40	Cân bằng lại

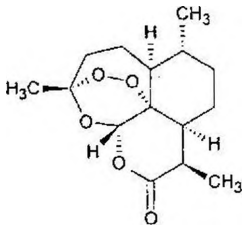
Với các điều kiện sắc ký như trên, thời gian lưu của artemether khoảng 19 min, của lumefantrin khoảng 34 min. Tính hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, và hàm lượng lumefantrin, $C_{30}H_{32}Cl_3NO$, trong mỗi viên từ diện tích pic artemether và lumefantrin trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{26}O_5$ và $C_{30}H_{32}Cl_3NO$ trong artemether chuẩn và lumefantrin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng
20 mg artemether và 120 mg lumefantrin.

ARTEMISININ
Artemisininum



$C_{15}H_{22}O_5$ P.t.l: 282,3

Artemisinin là (3*R*,5a*S*,6*R*,8a*S*,9*R*,12*S*,12a*R*)-3,6,9 trimethyl-octahydro-3,12-epoxypyrano[4,3-j]-1,2benzodioxepin-10 (3*H*)-on, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{15}H_{22}O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể hình kim không màu.
Thực tế không tan trong nước, rất tan trong dicloromethan, dễ tan trong aceton và ethylacetat, tan trong acid acetic băng, methanol và ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của artemisinin chuẩn hoặc phổ đối chiếu của artemisinin.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Ether dầu hoả (40 °C đến 60 °C) - ether* (1 : 1).
Dung dịch thử: Chứa 0,10 mg chế phẩm trong 1 ml *toluen (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Chứa 0,10 mg artemisinin chuẩn trong 1 ml *toluen (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí hoặc làm khô dưới dòng khí mát, phun lên bản mỏng *dung dịch anisaldehyd trong acid sulfuric (TT)* và sấy bản mỏng ở 105 °C trong 7 min. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Hòa tan 5 mg chế phẩm trong 0,5 ml *ethanol (TT)*, thêm 0,5 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid (TT)* và 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd 8 %*. Đun hỗn hợp thu được trên cách thủy đến sôi, để nguội, thêm 5 giọt *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, màu tím đậm xuất hiện ngay.
D. Hòa tan 5 mg chế phẩm trong khoảng 0,5 ml *ethanol (TT)*, thêm 1,0 ml *dung dịch kali iodid 8 %*, 2,5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* để yên 1 min và 4 giọt *dung dịch hồ tinh bột (TT)*; màu tím sẽ xuất hiện ngay.

Góc quay cực riêng
Từ +75° đến +78°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch chế phẩm 1,0 % trong *ethanol (TT)* để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - nước* (50 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 10,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg artemisinin chuẩn (chứa artemisinin và tạp chất A) trong 10,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của artemisinin.
Trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1), thời gian lưu tương

đối so với artemisinin (thời gian lưu khoảng 10 min) của tạp chất A khoảng 0,79. Trên sắc ký đồ dung dịch thử, thời gian lưu tương đối so với artemisinin (thời gian lưu khoảng 10 min) của tạp chất B khoảng 0,85.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của artemisinin với pic của tạp chất A ít nhất là 4.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất A với 0,027.

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 0,15 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 0,3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,15 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

Tổng diện tích pic của các tạp chất và diện tích pic tạp chất A đã hiệu chỉnh, trừ pic chính, không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (3*R*,5a*S*,6*R*,8a*S*,12*S*,12a*R*)-3,6-Dimethyl-9-methylidenoctahydro-3,12-epoxypyrano[4,3-j]-1,2-benzodioxepin-10(3*H*)-on (artemisiten).

Tạp chất B: (3*R*,5a*S*,6*R*,8a*S*,9*S*,12*S*,12a*R*)-3,6,9-Trimethyl-octahydro-3,12-epoxypyrano[4,3-j]-1,2-benzodioxepin-10(3*H*)-on (9-*epi*-artemisinin).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 80 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) thời gian lưu tương đối so với artemisinin (thời gian lưu khoảng 10 min) của tạp chất A khoảng 0,79.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của artemisinin với pic của tạp chất A ít nhất là 4.

Tính hàm lượng phần trăm của $C_{15}H_{22}O_5$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{15}H_{22}O_5$ trong artemisinin chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng và để ở nơi mát.

Loại thuốc

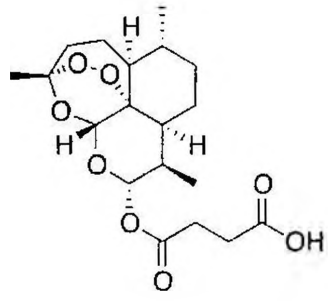
Điều trị bệnh sốt rét.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc đạn, phối hợp với các thuốc chống sốt rét khác.

ARTESUNAT

Artesunatum



$C_{19}H_{28}O_8$ P.t.l: 384,4

Artesunat là (3*R*,5a*S*,6*R*,8a*S*,9*R*,10*S*,12*R*,12a*R*)-decahydro-3,6,9-trimethyl-3,12-epoxy-12*H*-pyrano [4,3-*j*]-1,2-benzodioxepin-10-ol hydrogen succinat, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{19}H_{28}O_8$ (định lượng bằng phương pháp A) và phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{19}H_{28}O_8$ (định lượng bằng phương pháp B), tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, mịn. Rất khó tan trong nước, rất tan trong diclorometan, dễ tan trong aceton và ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của artesunat chuẩn hoặc phổ đối chiếu của artesunat.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silicagel G.

Dung môi khai triển: Ethanol - toluen - amoniac (70 : 30 : 1,5).

Dung dịch thử: Chứa 1,0 mg chế phẩm trong 1 ml *methanol (TT).*

Dung dịch đối chiếu: Chứa 1,0 mg artesunat chuẩn trong 1 ml *methanol (TT).*

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun lên bản mỏng *dung dịch anisaldehyd trong methanol (TT)* và sấy ở 120 °C trong 5 min. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, hình dạng và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 40 ml *ethanol (TT)*, lắc đều và lọc. Lấy 1/2 thể tích dịch lọc (phần còn lại để làm phản ứng D) thêm 0,5 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid trong ethanol (TT)* và 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd 8 %*. Đun hỗn hợp đến sôi trong cách thủy, để nguội, thêm 2 giọt *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu nâu đỏ.

D. Bay hơi trên cách thủy phần dịch lọc còn lại ở phép thử C đến khi còn khoảng 5 ml. Nhỏ vài giọt dung dịch thu được lên đĩa sứ trắng, thêm một giọt *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu đỏ.

pH

Từ 3,5 đến 4,5.

Dùng hỗn dịch chế phẩm 10 mg/ml trong *nước* để đo.

Góc quay cực riêng

Từ +4,5° đến +6,5°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chế phẩm 1,0 % trong *dicloromethan (TT)* để đo ở 20 °C.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm pH 3,0* (44 : 56).

Dung dịch đệm pH 3,0: Hòa tan 1,36 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 40 mg chế phẩm, hoà tan trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan khoảng 1 mg artenimol chuẩn, 1 mg artemisinin chuẩn và 10 mg artesunat chuẩn vào 10 ml *acetonitril (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng *acetonitril (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 216 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của artesunat.

Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1): Thời gian lưu tương đối so với artesunat (thời gian lưu khoảng 9 min): 10-*epi*-artenimol khoảng 0,58; artenimol khoảng 0,91; tạp chất B (artemisinin) khoảng 1,30.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 5,0; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic β-artenimol so với đường nền và H_v là chiều cao tính từ đường nền lên đến điểm thấp nhất của đường cong tách pic artenimol khỏi pic artesunat. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, thời gian lưu tương đối của tạp chất C so với thời gian lưu của artesunat khoảng 2,7.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất C với 0,07.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Tổng diện tích của tất cả các pic tương ứng với pic của 10-*epi*-artenimol và artenimol (tạp chất A) không được lớn hơn diện tích pic chính ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với pic của tạp chất B (artemisinin) không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Diện tích đã hiệu chỉnh của bất kỳ pic nào tương ứng với pic của tạp chất C không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Diện tích của bất kỳ pic tạp chất nào khác không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Tổng diện tích pic bao gồm diện tích pic đã hiệu chỉnh của tạp chất C và diện tích của các pic khác (trừ pic chính) không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Artenimol.

Tạp chất B: Artemisinin.

Tạp chất C: (3*R*,5a*S*,6*R*,8a*S*,12*R*,12a*R*)-3,6,9-trimethyl-3,4,5,5a,6,7,8,8a-octahydro-12*H*-3,12-epoxy-pyrano[4,3-j]-1,2-benzodioxepin.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 2,000 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 2,5 EU/mg.

Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm thì phải thử nội độc tố vi khuẩn theo phép thử nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2).

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào khác để tiệt khuẩn thì phải đáp ứng phép thử "Thử vô khuẩn" (Phụ lục 13.7).

Định lượng

Có thể chọn một trong hai phương pháp sau:

A. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Tiến hành như phần Tạp chất liên quan.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 40 mg artesunat chuẩn trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (3).
Kiểm tra tính phù hợp hệ thống: Như phần Tạp chất liên quan.
Tính hàm lượng $C_{19}H_{28}O_8$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng $C_{19}H_{28}O_8$ trong artesunat chuẩn.
B. Hòa tan chính xác khoảng 0,25 g artesunat trong 25 ml ethanol đã được trung hòa và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,05 N (CĐ)*, dùng 2 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,05 N (CĐ)* tương đương với 19,22 mg $C_{19}H_{28}O_8$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng và để ở nơi mát. Ghi rõ nếu chế phẩm không có nội độc tố vi khuẩn hoặc vô khuẩn.

Loại thuốc
Điều trị bệnh sốt rét.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM ARTESUNAT
Artesunati pulvis ad injectionem

Bột pha tiêm artesunat là bột kết tinh vô khuẩn của artesunat, đựng trong lọ thủy tinh kín vô khuẩn.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng artesunat, $C_{19}H_{28}O_8$, phải từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột kết tinh trắng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Chế phẩm phải có phổ hấp thụ hồng ngoại phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của artesunat (Phụ lục 4.2).
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethanol - toluen - amoniac (70 : 30 : 1,5).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột thuốc trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ artesunat 1 mg/ml.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch artesunat chuẩn trong *methanol (TT)* nồng độ 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch anisaldehyd (TT)* và làm nóng bản mỏng ở 120 °C trong 5 min. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, kích thước, màu sắc với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Hòa tan một lượng bột thuốc tương đương 0,1 g artesunat trong 40 ml *ethanol (TT)*, lắc đều, lọc. Thêm vào một nửa dịch lọc (phần còn lại dùng cho phép thử D) 0,5 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid trong ethanol (TT)*, 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Đun hỗn hợp trong cách thủy đến sôi, để nguội, thêm 2 giọt *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu tím đỏ.
D. Bốc hơi trên cách thủy phần dịch lọc còn lại ở phép thử C đến khi thể tích còn khoảng 5 ml. Lấy vài giọt cho vào một đĩa sứ trắng, thêm một giọt *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu nâu đỏ.

Độ trong của dung dịch
Dung dịch tạo thành pha theo hướng dẫn sử dụng phải trong (Phụ lục 9.2) và không có tiểu phân nhìn thấy bằng mắt thường (Phụ lục 11.8, mục B).

pH
Lắc kỹ 0,50 g chế phẩm trong 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và lọc. pH của dịch lọc phải từ 3,5 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Clorid
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4).
Lắc kỹ 0,50 g chế phẩm với 30 ml *nước* và lọc qua giấy lọc đã rửa hết ion clorid. Bỏ khoảng 5 ml dịch lọc đầu, lấy 15 ml dịch lọc tiến hành thử.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 2,000 g bột thuốc.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và điều kiện sắc ký: Thực hiện như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử trong phần Định lượng.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml với *acetonitril (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan khoảng 1 mg artenimol chuẩn, 1 mg artemisinin chuẩn và 10 mg artesunat chuẩn trong 10 ml *acetonitril (TT)*.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2), ghi lại sắc ký đồ trong khoảng thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của artesunat.

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2), các pic có thời gian lưu tương đối so với artesunat (thời gian lưu khoảng 9 min) như sau: α-artenimol khoảng 0,58; β-artenimol (tạp chất A) khoảng 0,91 và artemisinin (tạp chất B) khoảng 1,30. Phép thử chỉ có giá trị khi tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) không nhỏ hơn 5,0 (H_p là chiều cao trên đường nền của pic β-artenimol và H_v là chiều cao trên đường nền của đáy hõm tách pic β-artenimol và pic artesunat). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử có thể có một pic (tạp chất C) có thời gian lưu tương đối khoảng 2,7 so với pic artesunat.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Tổng diện tích đáp ứng của pic α-artenimol và β-artenimol không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).

Diện tích của pic tương ứng với tạp chất B (artemisinin) không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Diện tích của pic tương ứng với tạp chất C, sau khi nhân với 0,07 (hệ số hiệu chỉnh), không được lớn hơn 0,3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Diện tích của bất kỳ pic nào khác, ngoài pic chính, không được lớn hơn 0,3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Tổng diện tích hiệu chỉnh của bất cứ pic nào tương ứng với tạp chất C và diện tích của tất cả các pic khác ngoài pic chính không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (2,0 %). Bỏ qua pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 2,5 EU/mg artesunat.

Tiến hành thử theo chuyên luận "Phép thử nội độc tố vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 3,0 (44 : 56).

Dung dịch đệm phosphat pH 3,0: Hòa tan 1,36 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 3,0 bằng *acid phosphoric đậm đặc (TT)* và pha loãng thành 1000 ml *với nước*.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 100 mg chế phẩm (từ hỗn hợp 20 đơn vị chế phẩm đã được làm đồng đều) vào bình định mức 25 ml, thêm khoảng 15 ml *acetonitril (TT)*, lắc để hòa tan và thêm *acetonitril (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch artesunat chuẩn trong *acetonitril (TT)* có nồng độ chính xác khoảng 4 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 216 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký riêng biệt 6 lần dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng artesunat, $C_{19}H_{28}O_8$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{19}H_{28}O_8$ của artesunat chuẩn.

Bảo quản

Bột pha tiêm artesunat được bảo quản trong lọ kín, để ở nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

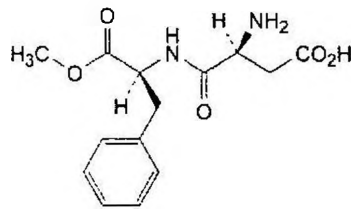
Thuốc chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

Lọ 60 mg.

ASPARTAM

Aspartamum



$C_{14}H_{18}N_2O_5$ P.t.l: 294,3

Aspartam là acid (3*S*)-3-amino-4-[[(2*S*)-1-methoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-4-oxobutanoic (methyl α-L-aspartyl-L-phenylalaninat), phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{14}H_{18}N_2O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, hơi hút ẩm.

Khó tan hoặc hơi tan trong nước và ethanol 96 %, thực tế không tan trong hexan và diclorometan.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của aspartam chuẩn.

B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Đo phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ bước sóng 230 nm đến 300 nm. Dung dịch phải có

các cực đại hấp thụ tại bước sóng 247 nm, 252 nm, 258 nm và 264 nm.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Nước - acid formic khan - methanol - dicloromethan (2 : 4 : 30 : 64).

Dung dịch thử: Hòa tan 15 mg chế phẩm trong 2,5 ml *nước*, pha loãng thành 10 ml bằng *acid acetic (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 15 mg aspartam chuẩn trong 2,5 ml *nước* và pha loãng thành 10 ml bằng *acid acetic (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl các dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí. Phun *dung dịch ninhydrin (TT)* và sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Hòa tan khoảng 20 mg chế phẩm trong 5 ml *methanol (TT)*, thêm 1 ml *dung dịch hydroxylamin kiềm (TT)*. Đun nóng trên cách thủy trong 15 min. Để nguội, điều chỉnh đến pH 2 bằng *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Thêm 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, màu đỏ nâu xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,8 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch màu mẫu VL_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Độ dẫn điện

Không được quá 30 $mS{\cdot}cm^{-1}$ (Phụ lục 6.10).

Xác định độ dẫn điện của dung dịch S (C_1) và của nước đã dùng để chuẩn bị dung dịch S (C_2). Các kết quả đọc được phải ổn định, chỉ được lệch 1 % trong khoảng thời gian 30 s. Tính độ dẫn điện của dung dịch S bằng công thức:

$$C_1 - 0{,}992C_2$$

Góc quay cực riêng

Từ +14,5° đến +16,5°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *dung dịch acid formic khan 69,0 %* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Đo góc quay cực của dung dịch thu được.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 0,68 % (TT) đã được điều chỉnh đến pH 3,7 bằng acid phosphoric (TT) (10 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,60 g chế phẩm trong hỗn hợp *acid acetic băng - nước* (1,5 : 98,5) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 9,0 mg diketopiperazin chuẩn trong hỗn hợp *acid acetic băng - nước* (1,5 : 98,5) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 30,0 mg *phenylalanin (TT)* trong hỗn hợp *acid acetic băng - nước* (15 : 85) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 3,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 30,0 mg *L-aspartyl-L-phenylalanin (TT)* trong hỗn hợp *acid acetic băng - nước* (15 : 85) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *nước*. Trộn 1,0 ml dung dịch thu được với 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm đến 10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp hai lần thời gian lưu của aspartam.

Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (3), điều chỉnh độ nhạy của thang đo sao cho chiều cao của pic chính không thấp hơn 50 % của toàn thang đo.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa hai pic của phenylalanin và L-aspartyl-L-phenylalanin ít nhất là 3,5.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với diketopiperazin không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,5 %) và diện tích của pic tương ứng với phenylalanin không được lớn hơn pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Tổng diện tích của tất cả các pic phụ, ngoài pic chính, trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,5 %), loại bỏ các pic của dung môi pha mẫu.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 4,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,250 g chế phẩm, hòa tan trong hỗn hợp gồm 1,5 ml *acid formic khan (TT)* và 60 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 29,43 mg $C_{14}H_{18}N_2O_5$.

Bảo quản
Trong đồ bao gói kín.

Loại thuốc
Chất làm ngọt.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc bột gói.

THUỐC BỘT ASPARTAM
Pulveres Aspartami

Là thuốc bột chứa aspartam.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận Thuốc bột (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng aspartam, $C_{14}H_{18}N_2O_5$, từ 90 % đến 110 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột màu trắng, có vị ngọt.

Định tính
A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi, lắc đều, lọc. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 200 đến 300 nm, phải cho các cực đại hấp thụ tại 247 nm, 252 nm, 258 nm và 264 nm.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Nước - acid formic - methanol - methylen clorid (2 : 4 : 30 : 64).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột chế phẩm tương ứng với 15 mg aspartam trong 2,5 ml *nước*, thêm *acid acetic (TT)* vừa đủ 10 ml.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch aspartam chuẩn 0,15 % trong hỗn hợp gồm 2,5 thể tích *nước* và 7,5 thể tích *acid acetic (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch ninhydrin 2 % (TT)* và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ mịn
Thuốc bột phải đạt yêu cầu Bột rất mịn (Phụ lục 3.5).

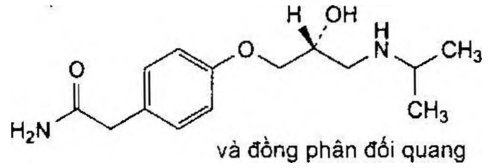
Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 9,0 % (Phụ lục 9.6).
(1 g; 80 °C).

Định lượng
Cân 20 đơn vị chế phẩm, xác định khối lượng trung bình, trộn đều. Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng 40 mg aspartam vào bình định mức 100 ml, hòa tan bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và thêm đến định mức với cùng một dung môi, lắc đều. Lọc, bỏ dịch lọc đầu. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được ở bước sóng 258 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. So sánh với dung dịch aspartam chuẩn 0,040 % trong *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*.
Tính hàm lượng aspartam, $C_{14}H_{18}N_2O_5$, trong chế phẩm dựa vào hàm lượng $C_{14}H_{18}N_2O_5$ trong aspartam chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng
1 g.

ATENOLOL
Atenololum



và đồng phân đối quang

$C_{14}H_{22}N_2O_3.HCl$ P.t.l: 266,3

Atenolol là 2-[4-[(2*RS*)-2-Hydroxy-3-[(1-methylethyl)-amino]propoxy]phenyl]acetamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{14}H_{22}N_2O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, hơi tan trong nước, tan trong ethanol khan, khó tan trong methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của atenolol chuẩn.
B. Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng *methanol (TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm. Phổ hấp thụ tử ngoại phải có hai cực đại hấp thụ ở bước sóng 275 nm và 282 nm. Tỉ số độ hấp thụ ở bước sóng 275 nm và bước sóng 282 nm từ 1,15 đến 1,20.

C. Điểm chảy: Từ 152 °C đến 155 °C (Phụ lục 6.7).
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel đã được silan hóa F_{254}.
Dung môi khai triển: Amoniac 18 M - methanol (1 : 99).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 1 ml *methanol (TT).*
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg atenolol chuẩn trong 1 ml *methanol (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và kích thước.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch màu chuẩn tương tự ở mức 6 (Phụ lục 9.3), phương pháp 2).

Góc quay cực
Từ +0,10° đến -0,10° (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1,0 g *natri octansulfonat (TT)* và 0,4 g *tetrabutylamoni hydrosulfat (TT)* trong 1 L hỗn hợp dung môi gồm: *Tetrahydrofuran - methanol (TT_2) - dung dịch kali dihydrophosphat 0,34 %* (20 : 180 : 800); điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT).*
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 20,0 ml pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg atenolol chuẩn để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất: B, F, G, I và J) bằng 1,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 226 nm.
Tốc độ dòng: 0,6 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của atenolol.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo atenolol chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic các tạp chất B, F, G, I và J.
Thời gian lưu tương đối so với atenolol (thời gian lưu khoảng 8 min): Tạp chất B khoảng 0,3; tạp chất J khoảng 0,7; tạp chất I khoảng 0,8; tạp chất F khoảng 2,0 (gồm hai pic); tạp chất G khoảng 3,5.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất J (tạp chất chưa định danh) với pic của tạp chất I ít nhất là 1,4.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất J với 1,5.
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Tạp chất F, G, I: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 2-(4-Hydroxyphenyl)acetamid.
Tạp chất B: 2-[4-[(2*RS*)-2,3-Dihydroxypropoxy]phenyl]acetamid.
Tạp chất D: 2-[4-[(2*RS*)-3-Cloro-2-hydroxypropoxy]phenyl]acetamid.
Tạp chất E: 2,2'-[(2-Hydroxypropan-1,3-diyl)bis(oxy-4,1-phenylen)] diacetamid.
Tạp chất F: 2,2'-[[(1-Methylethyl)imino]bis[(2-hydroxypropan-3,1-diyl)oxy-4,1- phenylen]]diacetamid.
Tạp chất G: Acid 2-[4-[(2*RS*)-2-hydroxy-3-[(1-methylethyl) amino]propoxy]phenyl]acetic.
Tạp chất H: 2-[4-[(2*RS*)-2-Hydroxy-3-[(1-methylethyl)amino] propoxy]phenyl]acetonitril.
Tạp chất I: 2-[4-[(2*RS*)-3-(Ethylamino)-2-hydroxypropoxy]phenyl] acetamid.

Clorid
Không được quá 0,1 %.
Hòa tan 50 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và 15 ml *nước*. Dùng dung dịch thu được để thử (không thêm tiếp dung dịch acid nitric loãng) (Phụ lục 9.4.5).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 80 ml *acid acetic khan (TT).* Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CD),* xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 26,63 mg $C_{14}H_{22}N_2O_3$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chẹn đối giao cảm beta.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc tiêm, dung dịch uống.

VIÊN NÉN ATENOLOL
Tabellae Atenololi

Là viên nén, hay viên bao chứa atenolol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng atenolol, $C_{14}H_{22}N_2O_3$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng 230 nm đến 350 nm có các hấp thụ cực đại ở khoảng 276 nm và 283 nm.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (1) phải tương ứng với thời gian lưu của pic atenolol trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (3).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh pH tới 3,0 với *acid phosphoric (TT)*.
Pha động: Hòa tan 1,30 g *natri octansulfonat (TT)* trong hỗn hợp 700 ml dung dịch đệm phosphat và 300 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch (1): Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 50 mg atenolol, thêm 40 ml pha động, siêu âm 20 min, pha loãng thành 50,0 ml với pha động, lọc. Sử dụng dịch lọc.
Dung dịch (2): Pha loãng 1 ml dung dịch (1) thành 100 ml với pha động.
Dung dịch (3): Dung dịch atenolol chuẩn 0,1 % trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 275 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiêm dung dịch (2), điều chỉnh sao cho chiều cao của pic chính bằng 20 % thang đo. Tiêm dung dịch (1), tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp ba lần thời gian lưu của pic chính.
Tổng diện tích của các pic phụ trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (1) không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (2).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 9 ml *acid hydrocloric (TT)* pha loãng thành 1000 ml với *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan mẫu thử, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 10 mg atenolol/ml. Pha dung dịch atenolol chuẩn trong môi trường hòa tan để có nồng độ chính xác khoảng 10 mg/ml. Đo độ hấp thụ của các dung dịch ở bước sóng 224 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{14}H_{22}N_3O_3$ của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng atenolol, $C_{14}H_{22}N_2O_3$, đã hòa tan trong mỗi viên.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng atenolol, $C_{14}H_{22}N_2O_3$, so với hàm lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Cân 20 viên (đã loại bỏ lớp vỏ bao, nếu là viên bao), nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 35 mg atenolol vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml *ethanol (TT)*, làm nóng hỗn dịch tới 60 °C và lắc trong 15 min, để nguội, thêm *ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Lấy 5,0 ml dịch lọc, pha loãng thành 50,0 ml với *ethanol (TT)*.
Pha dung dịch atenolol chuẩn trong *ethanol (TT)* có nồng độ chính xác khoảng 0,07 mg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở bước sóng khoảng 276 nm trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là *ethanol (TT)*.
Tính hàm lượng atenolol, $C_{14}H_{22}N_2O_3$, trong viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{14}H_{22}N_2O_3$ của dung dịch chuẩn.

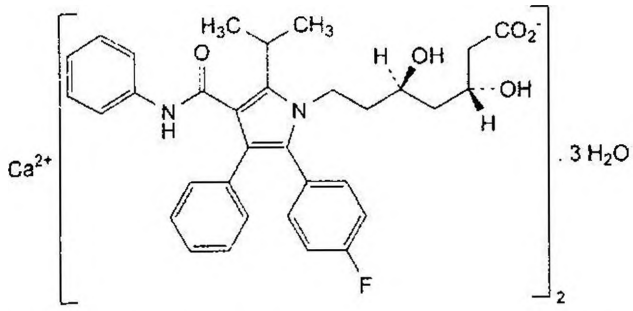
Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng
25 mg; 50 mg; 100 mg.

ATORVASTATIN CALCI TRIHYDRAT

Atorvastatinum calcium trihydricum



$C_{66}H_{68}CaF_2N_4O_{10}.3H_2O$ P.t.l: 1209

Atorvastatin calci trihydrat là calci (3*R*,5*R*)-7-[2-(4-fluorophenyl)-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoat trihydrat, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{66}H_{68}CaF_2N_4O_{10}$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng, đa hình.

Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong methylen clorid.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của atorvastatin calci trihydrat chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại của mẫu thử và mẫu chuẩn ở trạng thái rắn khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và atorvastatin calci trihydrat chuẩn trong *methanol (TT)*, bốc hơi đến khô. Ghi phổ mới của các cắn thu được.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Tạp chất đồng phân đối quang.

C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Nước.

D. Cắn sau khi nung chế phẩm phải cho phản ứng (A) của calci (Phụ lục 8.1). Nếu cắn không hòa tan hoàn toàn thì có thể lọc lấy dịch lọc làm phản ứng.

Tạp chất đồng phân đối quang

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acid trifluoroacetic - ethanol khan - hexan (0,1 : 6 : 94).

Dung môi pha mẫu: Ethanol khan - methanol (50 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 4 ml dung môi pha mẫu và pha loãng thành 10,0 ml với *hexan (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg tạp chất E chuẩn của atorvastatin trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 1,25 ml *methanol (TT)*, thêm 0,75 ml dung dịch A và 2 ml *ethanol khan (TT)* rồi pha loãng thành 10,0 ml với *hexan (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 2,0 ml dung dịch thử, thêm 40,0 ml dung môi pha mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với *hexan (TT)*. Lấy 3,0 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml dung môi pha mẫu và pha loãng thành 20,0 ml với *hexan (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *dẫn xuất amylose của silica gel dùng cho sắc ký* (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 244 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,2 lần thời gian lưu của pic atorvastatin.

Thời gian lưu tương đối của pic tạp chất E so với pic atorvastatin (thời gian lưu khoảng 44 min) là khoảng 0,8.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic tương ứng với tạp chất E và pic atorvastatin không nhỏ hơn 2,0.

Giới hạn:

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với pic tạp chất E không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Tetrahydrofuran - acetonitril - dung dịch amoni acetat 0,39 % đã được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng acetic acid băng (12 : 21 : 67).

Pha động B: Tetrahydrofuran - acetonitril - dung dịch amoni acetat 0,39 % đã được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng acetic acid băng (12 : 61 : 27).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hoà tan 40,0 mg atorvastatin calci trihydrat chuẩn trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 100,0 ml với *dimethylformamid (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với *dimethylformamid (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 2,5 mg tạp chất A chuẩn của atorvastatin; 2,5 mg tạp chất B chuẩn của atorvastatin; 2,5 mg tạp chất C chuẩn của atorvastatin; 2,5 mg tạp chất D chuẩn của atorvastatin và 2,5 mg chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).

Nhiệt độ cột: 35 °C.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 244 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl mỗi dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (2), dung dịch đối chiếu (3).
Cách tiến hành:
Tiến hành chạy sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 40	100	0
40 - 70	100 → 20	0 → 80
70 - 85	20 → 0	80 → 100

Dựa trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) để xác định vị trí các pic tương ứng với các tạp chất A, B, C, D của atorvastatin.
Thời gian lưu tương đối của các pic tạp chất so với pic atorvastatin (thời gian lưu khoảng 33 min) là: Tạp chất A khoảng 0,8; tạp chất B khoảng 0,9; tạp chất C khoảng 1,2; tạp chất D khoảng 2,1.
Nếu cần thiết, có thể điều chỉnh pha động bằng cách tăng hoặc giảm tỷ lệ acetonitril hoặc pH của dung dịch amoni acetat sao cho thời gian lưu của atorvastatin khoảng 33 min. Ví dụ, tăng giá trị pH có thể làm giảm thời gian lưu của atorvastatin.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic tương ứng với tạp chất B và pic atorvastatin không nhỏ hơn 1,5.
Giới hạn:
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2):
Tạp chất A, B: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %)
Tạp chất C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng các tạp chất: Tổng diện tích các pic tạp không được lớn hơn 15 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %) và pic tương ứng với dimetnylformamid.
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (3*R*,5*R*)-3,5-dihydroxy-7-[5-(1-methylethyl)-2,3-diphenyl-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]heptanoic (desfluoroatorvastatin).
Tạp chất B: Acid (3*RS*,5*SR*)-7-[2-(4-fluorophenyl)-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoic.
Tạp chất C: Acid (3*R*,5*R*)-7-[2,3-bis(4-fluorophenyl)-5-(1-methylethyl)-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoic (fluoroatorvastatin).
Tạp chất D: 3-[(4-fluorophenyl)carbonyl]-2-(2-methylpropanoyl)-*N*,3-diphenyloxiran-2-carboxamid.
Tạp chất E: Acid (3*S*,5*S*)-7-[2-(4-fluorophenyl)-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoic (*ent*-atorvastatin).
Tạp chất F: Acid (3*R*,5*R*)-7-[[(3*R*,5*R*)-7-[2-(4-fluorophenyl)-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoyl]amino]-3,5-dihydroxyheptanoic.
Tạp chất G: Acid (3*R*,5*R*)-7-[2-(4-fluorophenyl)-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]-5-hydroxy-3-methoxyheptanoic (3-*O*-methylatorvastatin).
Tạp chất H: (4*R*,6*R*)-6-[2-[2-(4-fluorophenyl)-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]ethyl]-4-hydroxytetrahydro-2*H*-pyran-2-on.

Natri
Không được quá 0,4 % (tính theo chế phẩm khan).
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung môi pha mẫu: Acid hydrocloric - nước - methanol (2 : 25 : 75).
Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Các dung dịch chuẩn: Từ *dung dịch natri mẫu 50 phần triệu Na (TT)*, pha loãng bằng dung môi pha mẫu để thu được các dung dịch chuẩn có nồng độ phù hợp.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 589,0 nm, dùng đèn cathod rỗng natri làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 8).
Dung môi pha mẫu: Nước - methanol (10 : 90).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 30 ml dung môi pha mẫu.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* thành 30 ml bằng dung môi pha mẫu.
Dung dịch mẫu trắng: 30 ml dung môi pha mẫu.

Nước
Từ 3,5 % đến 5,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,130 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).
Tính hàm lượng phần trăm atorvastatin calci, $C_{66}H_{68}CaF_2N_4O_{10}$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic atorvastatin thu được trên sắc ký đồ dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng $C_{66}H_{68}CaF_2N_4O_{10}$ trong atorvastatin calci trihydrat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Ức chế HMG Co-A reductase; chống tăng lipid máu.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN ATORVASTATIN
Tabellae Atorvastatini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa atorvastatin. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng atorvastatin, $C_{33}H_{35}FN_2O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy lượng bột viên tương ứng 10 mg atorvastatin, thêm 50 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ, ly tâm. Lấy 2,5 ml dịch trong pha loãng với *methanol (TT)* vừa đủ 50 ml. Phổ hấp thu tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được phải có cực đại trong khoảng bước sóng từ 244 nm đến 248 nm.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic atorvastatin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với *nước* nếu cần để được dung dịch có nồng độ atorvastatin khoảng 6 µg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng atorvastatin calci chuẩn tương tương với 30 mg atorvastatin, hòa tan trong 100,0 ml *methanol (TT)*. Hút chính xác 5 ml dung dịch thu được và pha loãng thành 250,0 ml bằng *nước*.
Định lượng dược chất hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, điều kiện sắc ký tương tự phần Định lượng.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính lượng atorvastatin, $C_{33}H_{35}FN_2O_5$, trong mỗi viên đã hòa tan dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{33}H_{35}FN_2O_5$ trong atorvastatin calci chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng atorvastatin, $C_{33}H_{35}FN_2O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Acetonitril - tetrahydrofuran (92,5 : 7,5).
Pha động B: Dung dịch amoni dihydrophosphat 0,05 M - pha động A (58 : 42).
Pha động C: Dung dịch amoni dihydrophosphat 0,05 M - pha động A - methanol (20 : 20 : 60).
Hỗn hợp dung môi: Acetonitril - nước (40 : 60).
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng 50 mg atorvastatin, hòa trong 10 ml *methanol (TT)*, thêm 20 ml hỗn hợp dung môi, lắc siêu âm để hòa tan (nếu cần), thêm hỗn hợp dung môi vừa đủ 100,0 ml. Lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Cân chính xác một lượng atorvastatin calci chuẩn tương đương với 25 mg atorvastatin, hòa tan trong 5 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 246 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Thời gian chờ tiêm: 10 min.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Tốc độ dòng (ml/min)	Pha động B (% tt/tt)	Pha động C (% tt/tt)
0 - 20	1,8	100	0
20 - 35	1,8	100 → 25	0 → 75
35 - 40	1,5	25	75
40 - 55	1,5	25 → 0	75 → 100
55 - 60	1,8	0 → 100	100 → 0

Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Phép thử có giá trị khi hiệu lực cột không ít hơn 5000 đĩa lý thuyết, hệ số đối xứng của pic atorvastatin không lớn hơn 1,5.
Tiêm dung dịch đối chiếu (2) và dung dịch thử. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất cứ pic phụ nào cũng không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %) và tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (4,0 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Áp dụng đối với viên có hàm lượng atovastatin bằng hoặc nhỏ hơn 10 mg.
Xác định hàm lượng atorvastatin trong mỗi viên bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký tương tự trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Cho một viên vào bình định mức 50 ml, thêm 3 ml *nước*, để viên rã và phân tán trong *nước*, thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều và lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 25,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Acetonitril - tetrahydrofuran (92,5 : 7,5).
Dung dịch đệm: Hòa tan 1,54 g *amoni acetat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *acid acetic (TT)*.

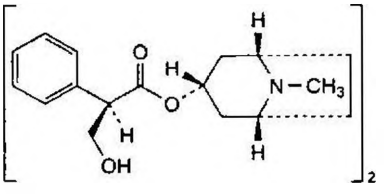
Pha động: Dung dịch đệm - pha động A (50 : 50).
Dung môi pha mẫu: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 0,9 g *natri hydroxyd (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh pH dung dịch đến 6,8 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (TT)*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng 40 mg atorvastatin cho vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ, siêu âm để hòa tan, để nguội, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch. Lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Dung dịch chuẩn: Cân một lượng atorvastatin calci chuẩn tương đương với 40 mg atorvastatin cho vào bình định mức 50 ml, hòa tan trong *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lấy 5,0 ml dung dịch thu được pha loãng thành 50,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 246 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn. Phép thử có giá trị khi hiệu lực cột không nhỏ hơn 2000 đĩa lý thuyết, hệ số đối xứng không lớn hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của pic atorvastatin không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng atorvastatin, $C_{33}H_{35}FN_2O_5$, trong chế phẩm dựa vào vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{33}H_{35}FN_2O_5$ trong atorvastatin calci chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, để nơi khô mát hoặc ở nhiệt độ phòng.

Loại thuốc
Chống tăng lipid máu.

Hàm lượng thường dùng
10 mg, 20 mg, 40 mg, 80 mg.

ATROPIN SULFAT
Atropini sufas



. H_2SO_4 . H_2O

và đồng phân đối quang

$C_{34}H_{46}N_2O_6.H_2SO_4.H_2O$ P.t.l: 695

Atropin sulfat là bis[(1*R*,3*r*,5*S*)-8-methyl-8-azabicyclo [3.2.1]oct-3-yl (2*RS*)-3-hydroxy-2-phenyl propanoat] sulfat monohydrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{34}H_{46}N_2O_6.H_2SO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Tinh thể không màu hay bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B, E.
Nhóm II: C, D, E, F.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của atropin sulfat chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực.
C. Hòa tan khoảng 50 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 5 ml *dung dịch acid picric 1 % (TT)*. Lọc, rửa tủa bằng *nước* và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 2 h. Tủa chảy ở nhiệt độ từ 174 °C đến 179 °C (Phụ lục 6.7).
D. Thêm 0,2 ml *acid nitric bốc khói (TT)* vào khoảng 1 mg chế phẩm và bốc hơi trong cách thủy tới khô. Hòa tan cắn trong 2 ml *aceton (TT)*, thêm 0,1 ml *dung dịch kali hydroxyd 3 % trong methanol (TT)*. Màu tím xuất hiện.
E. Chế phẩm phải cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).
F. Chế phẩm phải cho phản ứng của alcaloid (Phụ lục 8.1).

pH
Hòa tan 0,60 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 30 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải có pH từ 4,5 đến 6,2 (Phụ lục 6. 2).

Góc quay cực
Từ -0,50° đến +0,05° (Phụ lục 6.4).
Cân chính xác khoảng 2,5 g chế phẩm, hòa tan trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Đo trong ống dài 2 dm.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Hòa tan 3,5 g *natri dodecylsulfat (TT)* trong 606 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,7 %* đã được điều chỉnh đến pH 3,3 bằng *dung dịch acid phosphoric 0,05 M (TT)*, trộn dung dịch thu được với 320 ml *acetonitril (TT_1)*.
Pha động B: *Acetonitril (TT_1)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 24 mg chế phẩm vào pha động A và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg tạp chất B chuẩn của atropin vào dung dịch thử và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan atropin chuẩn dùng để định tính pic (chứa các tạp chất A, D, E, F, G và H) có trong một lọ chuẩn bằng 1 ml pha động A.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 5 mg *acid tropic (TT)* (tạp chất C) vào pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng pha động A. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 2	95	5
2 - 20	95 → 70	5 → 30

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo atropin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của các tạp chất A, D, E, F, G và H. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất B. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất C. Thời gian lưu tương đối so với atropin (thời gian lưu khoảng 11 min): Tạp chất C khoảng 0,2; tạp chất E khoảng 0,67; tạp chất D khoảng 0,73; tạp chất F khoảng 0,8; tạp chất B khoảng 0,89; tạp chất H khoảng 0,93; tạp chất G khoảng 1,1; tạp chất A khoảng 1,7.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic atropin ít nhất là 2,5.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất A là 0,6; tạp chất C là 0,6.

Tạp chất E, H: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Tạp chất A, B, C, D, F, G: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (1*R*,3*r*,5*S*)-8-Methyl-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl 2-phenylpropenoat (apoatropin).

Tạp chất B: (1*R*,3*r*,5*S*)-8-Azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl (2*RS*)-3-hydroxy-2-phenylpropanoat (noratropin).

Tạp chất C: Acid (2*RS*)-3-hydroxy-2-phenylpropanoic (aicd tropic).

Tạp chất D: (1*R*,3*S*,5*R*,6*RS*)-6-Hydroxy-8-methyl-8-azabicyclo [3.2.1]oct-3-yl (2*S*)-3-hydroxy-2-phenylpropanoat (6-hydroxy-hyoscyamin).

Tạp chất E: (1*S*,3*R*,5*S*,6*RS*)-6-Hydroxy-8-methyl-8-azabicyclo [3.2.1]oct-3-yl (2*S*)-3-hydroxy- 2-phenylpropanoat (7-hydroxy-hyoscyamin).

Tạp chất F: (1*R*,2*R*,4*S*,5*S*,7*s*)-9-Methyl-3-oxa-9-azatricyclo [3.3.1.0^{2,4}]non-7-yl (2*S*)-3- hydroxy-2-phenylpropanoat (hyoscin).

Tạp chất G: (1*R*,3*r*,5*S*)-8-Methyl-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl (2*RS*)-2-hydroxy-3- phenylpropanoat (littorin).

Tạp chất H: Chưa rõ cấu trúc.

Nước

2,0 % đến 4,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9), phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,500 g chế phẩm vào 30 ml *acid acetic khan (TT)*, làm ẩm dung dịch nếu cần. Để nguội. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* và xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 67,68 mg $C_{34}H_{48}N_2O_{10}S$.

Bảo quản

Trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc ức chế đối giao cảm.

Chế phẩm

Thuốc nhỏ mắt dạng thuốc nước và thuốc mỡ, thuốc tiêm, viên nén.

THUỐC TIÊM ATROPIN SULFAT

Injectio Atropini sulfatis

Là dung dịch vô khuẩn của atropin sulfat trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng atropin sulfat, $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - aceton - diethylamin (50 : 40 : 10).
Dung dịch thử: Bốc hơi trên cách thủy một thể tích tương đương 5 mg atropin sulfat, rồi hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch atropin sulfat chuẩn 0,5 % trong *ethanol 96 % (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, sấy bản mỏng ở 105 °C trong 20 min, để nguội, phun *thuốc thử kali iodobismuthat loãng (TT)* và quan sát. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, hình dạng, màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic atropin sulfat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH
Từ 3,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch chứa *natri acetat 0,01 M (TT)* và *dioctyl natri sulfosuccinat 0,005 M (TT)* trong *methanol 60 % (TT),* điều chỉnh đến pH 5,5 bằng *acid acetic băng (TT).*
Đối với chế phẩm có hàm lượng atropin sulfat nhỏ hơn 0,1 %
Dung dịch thử : Dung dịch chế phẩm.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch atropin sulfat chuẩn có nồng độ tương đương với dung dịch thử pha trong *nước.*
Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa atropin sulfat chuẩn và homatropin hydrobromid chuẩn trong pha động, cả hai chất có nồng độ tương đương với dung dịch thử.
Thể tích tiêm: 100 µl.
Đối với chế phẩm có hàm lượng atropin sulfat bằng hoặc lớn hơn 0,1 %
Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm bằng *nước* (nếu cần) để được dung dịch atropin sulfat 0,1 %.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch atropin sulfat chuẩn 0,1 % pha trong *nước.*
Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa atropin sulfat chuẩn 0,1 % và homatropin hydrobromid chuẩn 0,1 % trong pha động.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 257 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, thử nghiệm chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic atropin sulfat và homatropin hydrobromid trên sắc ký đồ không nhỏ hơn 2,5.
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng của atropin sulfat, $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn và hàm lượng $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$ trong atropin sulfat chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Điều trị đau do co thắt đường tiêu hóa và tiết niệu, ngộ độc phosphor hữu cơ.

Hàm lượng thường dùng
0,25 mg/ml; 0,5 mg/ml.

VIÊN NÉN ATROPIN SULFAT
Tabellae Atropini sulfatis

Là viên nén chứa atropin sulfat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng atropin sulfat, $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Cloroform - aceton - diethylamin* (50 : 40 : 10).
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 5 mg atropin sulfat, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc 10 min đến 15 min, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy cho đến khô. Hòa tan cắn thu được trong 1 ml *ethanol 96 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch atropin sulfat chuẩn 0,5 % trong *ethanol 96 % (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra, sấy ở 105 °C trong 20 min, để nguội và phun *thuốc thử kali iodobismuthat loãng (TT).* Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Đồng đều hàm lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic atropin sulfat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Cân một lượng bột viên tương ứng với 5 mg atropin sulfat, thêm 5 ml *nước*, lắc kỹ 10 min đến 15 min, lọc. Thêm vào dịch lọc 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 0,5 ml *dung dịch bari clorid 5 % (TT)*, xuất hiện tủa trắng, không tan trong các acid.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch chứa *natri acetat 0,01 M (TT)* và *dioctyl natri sulfosuccinat 0,005 M (TT)* trong *methanol 60 % (TT)*, điều chỉnh đến pH 5,5 bằng *acid acetic băng (TT)*.
Dung dịch thử: Lấy 1 viên, thêm 2,0 ml pha động lắc siêu âm đến khi viên rã hoàn toàn, lọc.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch atropin sulfat chuẩn trong pha động có nồng độ tương đương nồng độ atropin sulfat trong dung dịch thử.
Dung dịch phân giải: Dung dịch atropin sulfat chuẩn và homatropin hydrobromid chuẩn trong pha động có nồng độ tương đương nồng độ atropin sulfat trong dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 257 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, hệ số phân giải giữa pic atropin sulfat và homatropin hydrobromid trên sắc ký đồ không nhỏ hơn 2,5.
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng của atropin sulfat, $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$, trong mỗi viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$ trong atropin sulfat chuẩn.

Định lượng
Lấy giá trị trung bình hàm lượng của 10 viên ở mục Đồng đều hàm lượng.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống co thắt.

Hàm lượng thường dùng
0,5 mg.

ATTAPULGIT
Attapulgitum

Attapulgit là magnesi nhôm silicat hydrat thiên nhiên tinh khiết, thành phần chủ yếu của một loại đất sét vô cơ.

Tính chất
Bột rất mịn, màu vàng sẫm hoặc màu kem sáng, không có hoặc hầu như không có sạn.

Định tính
A. Nung 0,5 g chế phẩm với 2 g *natri carbonat khan (TT)* trong 20 min, để nguội và chiết bằng 25 ml *nước* sôi. Để nguội, lọc, rửa cắn bằng *nước* và gộp nước rửa và dịch lọc. Giữ cắn để dùng cho phép thử định tính B. Acid hóa cẩn thận dịch thu được bằng *acid hydrocloric (TT)*, bay hơi tới khô, làm ẩm cắn bằng 0,2 ml *acid hydrocloric (TT)*, thêm 10 ml *nước* và khuấy đều. Xuất hiện tủa sền sệt màu trắng.
B. Rửa cắn thu được trong phép thử A bằng *nước* và hòa tan trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Lấy 2 ml dung dịch thu được, thêm *dung dịch amoni thiocyanat 10 % (TT)*. Xuất hiện màu đỏ đậm.
C. Lấy 2 ml dung dịch thu được trong phép thử B, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 42 % (TT)*, lọc. Thêm 3 ml *dung dịch amoni clorid 10,7 %* vào dịch lọc. Xuất hiện tủa sền sệt màu trắng.
D. Lấy 2 ml dung dịch thu được trong phép thử B, thêm *amoni clorid (TT)* và thêm một lượng dư *amoniac (TT)* và lọc. Lấy dịch lọc thu được, thêm 0,15 ml *thuốc thử magneson (TT)* và một lượng dư *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*. Xuất hiện tủa màu xanh dương.

pH
Từ 7,0 đến 9,5 (Phụ lục 6.2).
Lắc 5 g chế phẩm trong 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* trong 5 min. Dùng hỗn dịch thu được để đo.

Khả năng hấp phụ
Khả năng hút ẩm từ 5 % đến 14 %.
Nghiền một lượng chế phẩm đã làm khô trong không khí và rây qua rây số 150. Trải 0,5 g bột chế phẩm thu được thành một lớp mỏng trên một lá nhôm có kích thước 60 mm × 50 mm, dày 17,5 µm đã được làm khô và cân xác định khối lượng. Để lá nhôm có chứa chế phẩm vào một bình hút ẩm có đĩa chứa natri clorid tinh thể nhúng ngập một phần trong dung dịch natri clorid bão hòa ở 25 °C. Sau 4 h, lấy lá nhôm ra và cân lại ngay. Sau đó, sấy trong tủ sấy ở 110 °C trong 4 h, để nguội trong bình hút ẩm và cân. Khả năng hút ẩm là khối lượng tăng thêm của chế phẩm tính theo phần trăm so với khối lượng chế phẩm đã làm khô trong tủ sấy.

Arsenic
Không được quá 8 phần triệu (Phụ lục 9.4.2, phương pháp A).
Lấy 0,13 g chế phẩm, thêm 5 ml *nước*, 2 ml *acid sulfuric (TT)* và 10 ml *dung dịch sulfur dioxyd (TT)*. Bay hơi trên cách thủy đến khi hết sulfur dioxyd và thể tích dung dịch còn lại khoảng 2 ml. Dùng 5 ml *nước* để chuyển hết dung dịch còn lại vào bình chứa mẫu thử của bộ dụng cụ thử arsen.

Kim loại nặng
A. Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 1).
Lắc 6,0 g chế phẩm với 40 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)* ở 37 °C trong 30 min, để nguội và lọc. Rửa cắn bằng *nước*, gộp dịch lọc và dịch rửa và pha loãng thành

50 ml bằng *nước*. Hòa tan 2 g *amoni clorid (TT)* và 2 g *amoni thiocyanat (TT)* trong 20 ml dung dịch thu được. Lắc dung dịch này với 80 ml hỗn hợp đồng thể tích của *ether (TT)* và *alcohol isoamyl (TT)*, để phân lớp, lấy lớp nước. Tiếp tục chiết lớp nước với 80 ml hỗn hợp dung môi trên. Lấy lớp nước và thêm *2 g acid citric (TT)*, trung hòa bằng *amoniac 13,5 M (TT)* và pha loãng thành 25 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được để tiến hành thử. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

B. Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 1).

Lắc 6,0 g chế phẩm với 40 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M (TT)* ở 37 °C trong 30 min, để nguội và lọc. Rửa cắn bằng *nước*, gộp dịch lọc và dịch rửa và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*. Trung hòa 20 ml dung dịch thu được bằng *acid hydrocloric (TT)* và pha loãng thành 25 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được để tiến hành thử. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Chất tan trong acid

Đun sôi 2 g chế phẩm trong 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,2 M (TT)* dưới sinh hàn hồi lưu trong 5 min, để nguội và lọc. Bay hơi 50 ml dịch lọc tới cắn khô. Khối lượng cắn sau khi nung ở 600 °C trong 30 min không được quá 0,25 g.

Chất tan trong nước

Đun sôi 10 g chế phẩm trong 100 ml *nước* dưới sinh hàn hồi lưu trong 5 min, để nguội và lọc. Bay hơi 50 ml dịch lọc tới cắn khô. Khối lượng cắn sau khi nung ở 600 °C trong 30 min không được quá 50 mg.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 17,0 % (Phụ lục 9.6).
(1 g, 105 °C).

Mất khối lượng sau khi nung

Từ 15,0 % đến 27,0 %.
Nung 1 g chế phẩm ở 600 °C đến khối lượng không đổi.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

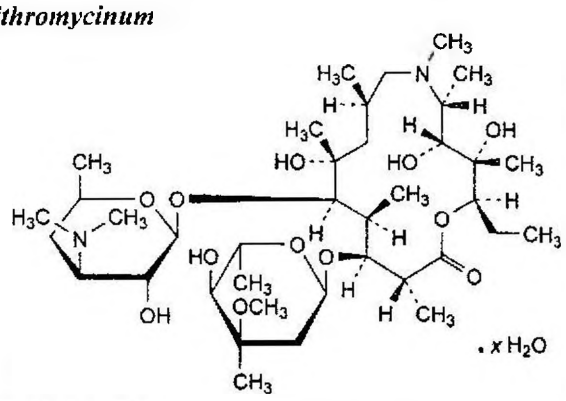
Chất hấp phụ, bảo vệ niêm mạc dạ dày, ruột.

Chế phẩm

Bột pha hỗn dịch.

AZITHROMYCIN

Azithromycinum



$C_{38}H_{72}N_2O_{12}.xH_2O$ (x = 1 hoặc x = 2) P.t.l: 749,0 (Dạng khan)

Azithromycin là (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-13-[(2,6-Dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl-α-L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-2-ethyl-3,4,10-trihydroxy-3,5,6,8,10,12,14-heptamethyl-11-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethyl-amino)-β-D-*xylo*-hexopyranosyl]oxy]-1-oxa-6-azacyclopentadecan-15-on, ngậm một hoặc hai phân tử nước phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, tính theo chế phẩm khan.

Sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong ethanol tuyệt đối và methylen clorid.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của azithromycin chuẩn.

Nếu so sánh phổ có sự sai khác khi đo ở dạng rắn, chuẩn bị dung dịch thử và dung dịch chuẩn trong *methylen clorid (TT)* có nồng độ 9,0 % và tiến hành đo phổ.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Từ 9,0 đến 11,0 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 25,0 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Góc quay cực riêng

Từ -45° đến -49°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Hòa tan 1,8 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* vào 1000 ml *nước* và điều chỉnh đến pH 8,9 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.

Pha động B: Methanol (TT_1) - acetonitril (TT_1) (250 : 750).
Hỗn hợp dung môi: Dung dịch đệm pH 10,0 - acetonitril (TT_1) - methanol (TT_1) (350 : 300 : 350).
Dung dịch đệm pH 10,0: Dung dịch amoni dihydrophosphat 0,173 % được điều chỉnh đến pH 10,0 bằng *amoniac (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,200 g chế phẩm bằng hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan azithromycin chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất F, H và J) có trong một lọ chuẩn bằng 1,0 ml hỗn hợp dung môi, siêu âm trong 5 min.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 8,0 mg azithromycin chuẩn dùng để định tính pic (chứa các tạp chất A, B, C, E, F, G, I, J, L, M, N, O và P) bằng 1,0 ml hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl amorphous organosilica polymer dùng cho phổ khối* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 60 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 25	50 → 45	50 → 55
25 - 30	45 → 40	55 → 60
30 - 80	40 → 25	60 → 75
80 - 81	25 → 50	75 → 50
81 - 93	50	50

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo azithromycin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của các tạp chất A, B, C, E, F, G, I, J, L, M, N, O và P. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo azithromycin chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất H.
Thời gian lưu tương đối so với azithromycin (thời gian lưu khoảng 45 min đến 50 min): Tạp chất L khoảng 0,29; tạp chất M khoảng 0,37; tạp chất E khoảng 0,43; tạp chất F khoảng 0,51; tạp chất D khoảng 0,54; tạp chất J khoảng 0,54; tạp chất I khoảng 0,61; tạp chất C khoảng 0,73; tạp chất N khoảng 0,76; tạp chất H khoảng 0,79; tạp chất A khoảng 0,83; tạp chất P khoảng 0,92; tạp chất O khoảng 1,23; tạp chất G khoảng 1,26; tạp chất B khoảng 1,31.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 1,4; trong đó H_p là chiều cao của đỉnh pic tạp chất J so với đường nền và H_v là chiều cao của đáy hõm tách hai pic tạp chất J và tạp chất F so với đường nền.

Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất F là 0,3; tạp chất G là 0,2; tạp chất H là 0,1; tạp chất L là 2,3; tạp chất M là 0,6; tạp chất N là 0,7.
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (2,0 %).
Tạp chất A, C, E, F, H, I, L, M, N, O, P: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh (nếu cần) không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Tổng diện tích pic tạp chất D và J không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (3,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %); bỏ qua những pic rửa giải ra trước tạp chất L và ra sau tạp chất B.
Ghi chú:
Tạp chất A: 6-Demethylazithromycin.
Tạp chất B: 3-Deoxyazithromycin (azithromycin B).
Tạp chất C: 3''-*O*-demethylazithromycin (azithromycin C).
Tạp chất D: 14-Demethyl-14-(hydroxymethyl)azithromycin (azithromycin F).
Tạp chất E: 3'-(*N*,*N*-didemethyl)azithromycin (aminoazithromycin).
Tạp chất F: 3'-*N*-demethyl-3'-*N*-formylazithromycin.
Tạp chất G: 3'-*N*-demethyl-3'-*N*-[(4-methylphenyl)sulphonyl] azithromycin.
Tạp chất H: 3'-*N*-[[4-(acetylamino)phenyl]sulfonyl]-3'-*N*-demethyl-azithromycin.
Tạp chất I: 3'-*N*-demethylazithromycin.
Tạp chất J: 13-*O*-decladinosylazithromycin.
Tạp chất K: $C^{14},1''$-epoxyazithromycin (azithromycin E).
Tạp chất L: Azithromycin 3'-*N*-oxid.
Tạp chất M: 3'-(*N*,*N*-didemethyl)-3'-*N*-formylazithromycin.
Tạp chất N: 3'-De(dimethylamino)-3'-oxoazithromycin.
Tạp chất O: 2-Desethyl-2-propylazithromycin.
Tạp chất P: Chưa biết cấu trúc.

Kim loại nặng
Không được quá 25 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *nước - ethanol khan* (15 : 85), pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 2. Pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb*

(TT) với hỗn hợp *nước - ethanol khan* (15 : 85) để thu được dung dịch chì mẫu 2,5 phần triệu Pb. Dùng *dung dịch chì mẫu 2,5 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Từ 1,8 % đến 6,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9), phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril (TT_1) - dung dịch đệm pH 11,0 (60 : 40).
Dung dịch đệm pH 11,0: Hòa tan 6,7 g *dikali hydrophosphat (TT)* vào 1000 ml *nước* và điều chỉnh pH đến 11,0 bằng *dung dịch kali hydroxyd 56 %*.
Dung dịch A: Acetonitril (TT_1) - dung dịch dikali hydrophosphat 0,67 % được điều chỉnh đến pH 8,0 bằng acid phosphoric (TT) (60 : 40).
Dung dịch thử: Hòa tan 53,0 mg chế phẩm trong 2 ml *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng dung dịch A.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 53,0 mg azithromycin chuẩn trong 2 ml *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng dung dịch A.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg chế phẩm và 5,0 mg tạp chất chuẩn A của azithromycin trong 0,5 ml *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng dung dịch A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *octadecylsilyl vinyl polymer dùng cho sắc ký lỏng* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của azithromycin.
Thời gian lưu của azithromycin khoảng 10 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A với pic của azithromycin ít nhất là 3,0.
Tính hàm lượng $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ của azithromycin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Chế phẩm
Nang, viên nén, hỗn dịch uống.

NANG AZITHROMYCIN
Capsulae Azithromycini

Là nang cứng chứa azithromycin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch đệm phosphat pH 6,0*.
Dung dịch đệm phosphat pH 6,0: Pha 6 L *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,1 M* và điều chỉnh tới pH 6,0 ± 0,1 bằng khoảng 40 ml *acid hydrocloric (TT)*, thêm vào 600 mg *trypsin (TT)*, trộn đều.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Xác định lượng azithromycin hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng với điều kiện sắc ký và pha động như mô tả ở mục Định lượng.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng thích hợp azithromycin chuẩn hòa tan trong môi trường hòa tan và pha loãng từng bước nếu cần với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Nước
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,3 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước - amoniac (80 : 19,9 : 0,1).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng azithromycin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ azithromycin khoảng 1,0 mg trong 1 ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg azithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic của azithromycin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ trong azithromycin chuẩn.

Bảo quản
Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh nhóm macrolid.

Hàm lượng thường dùng
250 mg; 500 mg.

BỘT PHA HỖN DỊCH AZITHROMYCIN
Pulveres Azithromycini ad suspensionum peroralum

Là thuốc bột dùng để pha hỗn dịch uống chứa azithromycin. Có thể có thêm các tá dược thích hợp tạo mùi vị, tạo màu, chất bảo quản, chất ổn định hỗn dịch....
Hỗn dịch tạo thành sau khi pha theo hướng dẫn trên nhãn thuốc phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Hỗn dịch thuốc" (Phụ lục 1.5).
Bột pha hỗn dịch phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột khô tơi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính
Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,5 g chế phẩm.

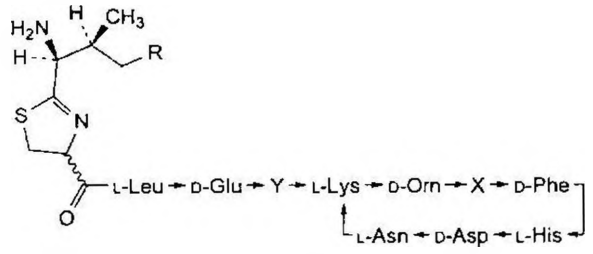
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước - amoniac (80 : 19,9 : 0,1).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng azithromycin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ azithromycin khoảng 1,0 mg trong 1 ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc (thu được từ phép thử Đồng đề khối lượng) tương ứng với khoảng 50 mg azithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic của azithromycin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ trong azithromycin chuẩn.

Bảo quản
Trong gói giấy nhôm hoặc polyethylen kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
125 mg; 250 mg.

BACITRACIN
Bacitracinum



Tên	Công thức	X	Y	R
Bacitracin A	$C_{66}H_{103}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Ile	CH_3
Bacitracin B1	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Ile	H
Bacitracin B2	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Val	L-Ile	CH_3
Bacitracin B3	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Val	CH_3

Bacitracin là hỗn hợp các polypeptid kháng khuẩn được tạo ra bởi một số loài *Bacillus licheniformis* hoặc *Bacillus subtilis*, thành phần chủ yếu là bacitracin A, B_1, B_2 và B_3. Phải chứa ít nhất 60 IU/mg (tính theo chế phẩm đã làm khô).

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng. Hút ẩm. Dễ tan trong nước và trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: B, C.
Nhóm II: A, C.
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel.