

CAO ĐẶC ACTISÔ

Cynarae scolymy Folii extractum spissum

Cao đặc actisô được bào chế từ lá cây Actisô (*Cynara scolymus* L.) họ Cúc (Asteraceae) theo phương pháp thích hợp, để chế phẩm có hàm lượng cynarin ổn định.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Cao thuốc” (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau đây:

Mô tả

Cao đặc actisô có thể chất mềm, đồng nhất. Màu nâu sẫm. Mùi đặc biệt. Vị hơi mặn chát và hơi đắng.

Định tính

A. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong khoảng 20 ml *ethanol* 96 % (TT), lọc. Được dịch lọc A.

Lấy 1 ml dịch lọc A cho vào ống nghiệm, thêm 0,1 g bột *magnesi* (TT) và 2 ml *acid hydrochloric* (TT), để yên, xuất hiện màu hồng đến đỏ.

Lấy 1 ml dịch lọc A cho vào một ống nghiệm, thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrochloric* 1 N (TT) và 0,5 ml *dung dịch natri nitrit* 10 % (TT). Để lạnh ở 10 °C trong khoảng 20 min. Thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd* 10 % (TT), sẽ xuất hiện màu vàng cam đến cam.

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

Bản mỏng: Silica gel F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - nước - acid formic (8 : 0,5 : 0,5).

Dung dịch thử: Cân 0,5 g cao chế phẩm, thêm 25 ml *methanol* 40 % (TT), siêu âm 5 min, lọc. Lấy 5 ml dịch lọc, thêm vào dịch lọc 5 ml nước cất, lắc với 5 ml *ethyl acetat* (TT), tách lấy dịch chiết ethyl acetat và cô trên cách thủy đến cạn. Hòa lẫn trong 1 ml *methanol* 40 % (TT) làm dung dịch thử.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan cynarin chuẩn trong *methanol* 40 % (TT) để thu được các dung dịch chuẩn có nồng độ khoảng 1 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl dung dịch thử và 10 µl dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch sắt* (III) *clorid* 5 % (TT), để khô ngoài không khí. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có vết cùng màu xanh rêu và tương đương về vị trí với vết cynarin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Cẩn không tan trong nước

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 50 ml *nước cất*, lọc, rửa cặn bằng *nước cất* đến khi nước rửa không màu, thu cặn và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cặn không được quá 3,0 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

pH

Dung dịch cao đặc actisô 1 % (kl/tt) trong *nước* phải có pH từ 5,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Mất khối lượng do làm khô

Không quá 20,0 %. Dùng 1,0 g chế phẩm sấy ở 70 °C đến khối lượng không đổi (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần

Không quá 35,0 %. Dùng 1,0 g chế phẩm (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Cân khoảng 0,800 g cao, cho vào ống ly tâm và thêm 10 ml *nước cất*, trộn thật đều. Thêm 20 ml *dung dịch chì acetat* 10 % (TT), lắc đều và ly tâm với tốc độ 3000 r/min, trong 15 min. Gạn bỏ nước, trộn đều cặn với 5 ml *dung dịch acid acetic* 10 % (TT) rồi thêm 25 ml *dung dịch acid sulfuric* 1 N (TT). Chuyển hết dung dịch vào bình định mức màu nâu 100 ml, lắc đều trong 60 min, sau đó thêm *nước cất* đến vạch. Lấy 20 ml dung dịch này cho vào ống ly tâm và ly tâm với tốc độ 3000 r/min, trong 15 min. Lấy chính xác 2 ml dịch trong ở phía trên, cho vào bình định mức 50 ml. Thêm *methanol* (TT) đến vạch. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 325 nm (Phụ lục 3.1), dùng *methanol* (TT) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng cynarin theo A (1 %, 1 cm), lấy 616 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cynarin ở bước sóng 325 nm.

Hàm lượng cynarin (C₂₅H₂₄O₁₂) không được nhỏ hơn 2,5 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, chống ẩm. Để nơi khô, mát.

CAO ĐẶC DIỆP HẠ CHÂU ĐẰNG

Phyllanthi amari Herbae extractum spissum

Cao đặc diệp hạ châu đặng được bào chế từ phần trên mặt đất của cây Diệp hạ châu đặng (*Phyllanthus amarus* Schum. et Thonn.) họ Thầu dầu (Euphorbiaceae) bằng phương pháp thích hợp để chế phẩm có hàm lượng phyllanthin ổn định. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Cao thuốc” (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau đây:

Mô tả

Thế chất mềm, dẻo, đồng nhất. Màu nâu sẫm đến đen. Mùi hăng đặc biệt. Vị rất đắng.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel 60F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (7 : 3). *Dung dịch thử:* Lấy 0,5 g chế phẩm, hòa tan trong 20 ml *nước nóng*, để nguội, kiềm hóa bằng *amoniac* (TT) đến pH 9 - 10, lắc dung dịch thu được với *cloroform* (TT) 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, bay hơi trên cách thủy đến còn khoảng 2 ml, dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g Diệp hạ châu đặng (mẫu chuẩn), thêm 100 ml *nước*, đun sôi nhẹ trong 30 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến còn 20 ml, để nguội, kiềm hóa bằng *amoniac* (TT) đến pH 9 - 10, lắc dung dịch thu được với *cloroform* (TT) 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp

các dịch chiết cloroform, bay hơi trên cách thủy đến còn khoảng 2 ml, dùng làm dung dịch đối chiếu.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí rồi phun thuốc thử Dragendorff (TT). Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết tương đương về vị trí và cùng màu với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

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

Bản mỏng: Silica gel 60F₂₅₄.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,4 g chế phẩm, hòa tan trong 20 ml nước nóng, để nguội, lắc kỹ dung dịch thu được với cloroform (TT) 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, bay hơi trên cách thủy đến cạn, hòa tan cạn trong 1 ml ethanol (TT), dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu (1): Lấy 4 g Diệp hạ châu đắng (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, thêm 100 ml nước, đun sôi nhẹ trong 30 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến còn 20 ml, để nguội, lắc dịch thu được với cloroform (TT) 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, bay hơi trên cách thủy đến cạn, hòa tan cạn trong 1 ml ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan phyllanthin chuẩn trong ethanol (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 2 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí rồi phun dung dịch acid sulfuric 10 % (TT). Sấy bản mỏng ở 120 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường hoặc ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết tương đương về vị trí và cùng màu với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và phải có vết tương đương về vị trí và cùng màu với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

C. 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 phyllanthin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 20,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không được quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không được quá 0,15 % (Phụ lục 9.7).

Cặn không tan trong nước

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 50 ml nước cất nóng, lọc qua giấy lọc đã cân bì, rửa cặn và giấy lọc bằng nước cất cho tới khi nước rửa không màu, sấy cặn và giấy lọc ở 100 °C đến 105 °C trong 3 h, lấy ra để nguội trong bình hút

âm 30 min, cân nhanh để xác định khối lượng cặn. Lượng cặn không được quá 1,0 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

pH

Dung dịch chế phẩm 1,0 % trong nước phải có pH từ 6,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Kim loại nặng

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

Lấy 1 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.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động:

Pha động A: Methanol (TT).

Pha động B: Dung dịch acid phosphoric 0,1 % (TT).

Dung dịch chuẩn: Hoà tan phyllanthin chuẩn trong methanol (TT) để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 30 μ g/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,2 g chế phẩm đã xác định độ ẩm vào bình định mức dung tích 50 ml, thêm 5 ml nước, lắc kỹ để phân tán mẫu đều. Thêm 30 ml methanol (TT), lắc siêu âm trong 30 min. Để nguội, bổ sung methanol (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

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	65	35
25 – 26	65 $\rightarrow$ 80	35 $\rightarrow$ 20
26 – 34	80	20
34 – 35	80 $\rightarrow$ 65	20 $\rightarrow$ 35
35 – 45	65	35

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic phyllanthin trên sắc ký đồ của 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %. Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Ghi sắc ký đồ. Tính hàm lượng phyllanthin trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng C₂₄H₃₄O₆ trong phyllanthin chuẩn. Hàm lượng phyllanthin (C₂₄H₃₄O₆) không được ít hơn 0,5 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

Bảo quản

Bảo quản trong đồ đựng hút chân không, chống ẩm. Để nơi khô, mát.