

dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ của dung dịch acid oleanolic chuẩn.

Hàm lượng acid oleanolic ($C_{30}H_{48}O_3$) trong chế phẩm không được ít hơn 0,04 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

Bảo quản

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

CAO ĐẶC ÍCH MẪU

Leonuri japonici Herbae extractum spissum

Cao đặc ích mẫu được bào chế từ phần trên mặt đất của cây Ích mẫu (*Leonurus japonicus* Houtt.), họ Bạc hà (Lamiaceae) bằng phương pháp thích hợp để chế phẩm có hàm lượng stachydrin ổn định.

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

Mô tả

Khối đồng nhất, màu đen, thể chất mềm, dẻo. Mùi hăng đặc biệt. Vị đắng.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: *n*-Butanol - acid hydrocloric - ethyl acetat (8 : 2 : 0,5) hoặc Aceton - ethanol - acid hydrocloric (10 : 6 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 3 ml dung dịch thử thu được trong phần Định lượng, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa lẫn trong 0,5 ml ethanol (TT) được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu (1): Cân chính xác khoảng 1 g bột thô Ích mẫu (mẫu chuẩn), chuyển vào túi giấy lọc, đặt vào bình Soxhlet và tiến hành chiết bằng ethanol (TT) trong khoảng 4 h. Lấy dịch chiết ethanol, cô dưới áp suất giảm đến còn khoảng 5 ml, chuyển vào cột chứa nhôm oxyd trung tính (TT) đã được chuẩn bị trước {lấy 10 g nhôm oxyd trung tính (TT), nhồi ướt bằng ethanol 95 % (TT) vào cột thủy tinh có khóa đường kính trong khoảng 1,5 - 1,8 cm để có chiều cao khoảng 4 cm trong cột}. Rửa giải bằng 200 ml ethanol (TT), tập trung dịch rửa giải vào bình cầu 250 ml, cô cạn dưới áp suất giảm. Hòa tan cần trong 3 ml ethanol (TT), được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan stachydrin hydroclorid chuẩn trong ethanol (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml.

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 ở nhiệt độ phòng, phun thuốc thử Dragendorff (TT) đến khi hiện rõ vết. Quan sát bản mỏng 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 (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).

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 30,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Cặn không tan trong nước

Không được quá 10,0 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 50 ml nước cất nóng, lọc qua giấy lọc đã cân bì trước, rửa giấy lọc và cặn bằng nước cất nóng đến khi nước rửa không màu, sấy cặn và giấy lọc ở 100 °C đến 150 °C trong 3 h, để nguội trong bình hút ẩm 30 min, cân nhanh để xác định khối lượng.

pH

5,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch chế phẩm 1,0 % trong nước để đo.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - nước (91 : 9).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan stachydrin hydroclorid trong ethanol (TT) để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,6 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1,0 g chế phẩm vào bình nón nút mài dung tích 100 ml, thêm 3 ml nước, lắc siêu âm để mẫu phân tán đều, thêm 60 ml ethanol (TT), lắc siêu âm trong 5 min, đun sôi hồi lưu trong cách thủy 2 h, để nguội, lọc lấy dịch lọc. Tráng rửa bình và giấy lọc bằng 150 ml ethanol (TT), gộp dịch rửa vào dịch lọc trên, cô dưới áp suất giảm đến còn khoảng 5 ml, chuyển vào cột chứa nhôm oxyd trung tính (TT) đã được chuẩn bị trước {lấy 10 g nhôm oxyd trung tính (TT), nhồi ướt bằng ethanol 95 % (TT) vào trong cột thủy tinh có khóa, đường kính 1,5 cm đến 1,8 cm để có chiều cao khoảng 4 cm trong cột}. Rửa giải bằng 200 ml ethanol (TT), tập trung dịch rửa giải vào bình cầu 250 ml, cô cạn dưới áp suất giảm. Hòa tan cần vừa đủ trong 20 ml hỗn hợp acetonitril - dung dịch acid acetic 0,1 % (8 : 2), lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh aminopropyl liên kết silica gel (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 203 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic stachydrin hydroclorid trên sắc ký đồ của 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.

Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn, dung dịch thử vào hệ thống sắc ký. Dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_7H_{13}NO_2 \cdot HCl$ trong stachydrin hydroclorid chuẩn, tính hàm lượng stachydrin hydroclorid trong chế phẩm.

Hàm lượng stachydrin hydroclorid không ít hơn 1,2 % ($C_7H_{11}NO_2.HCl$) tính theo chế phẩm khô kiệt.

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

CAO KHÔ ACTISÔ
Cynarae scolymi Folii extractum siccum

Cao khô 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 và acid chlorogenic 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
Bột màu vàng nâu sáng, dễ hút ẩm. Mùi đặc biệt. Vị hơi mặn chát và hơi đắng.

Định tính
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 0,1 g cao chế phẩm, thêm 5 ml *methanol 40 % (TT)*, siêu âm 5 min, 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 cặn trong 1 ml *methanol 40 % (TT)* làm dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan riêng biệt acid chlorogenic và 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 của dung dịch thử phải có vết cùng màu xanh rêu và tương đương về vị trí với vết cynarin, acid chlorogenic trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Cẩn không tan trong nước
Hoà 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 - 105 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cặn không được quá 5,8 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

pH
Dung dịch cao khô 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 5,0 % (Phụ lục 12.16, dùng 1 g chế phẩm).

Tro toàn phần
Không quá 30,0 % (Phụ lục 9.8, dùng 1,0 g chế phẩm).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Pha động: *Acetonitril - dung dịch acid formic 0,1 % (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan cynarin (acid 1,3-dicaffeoylquinic) chuẩn và acid chlorogenic chuẩn trong *methanol 40 % (TT)* để được dung dịch chuẩn có nồng độ cynarin và acid chlorogenic chính xác khoảng 25 - 50 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 20 mg đến 30 mg cao chế phẩm, cho vào bình định mức 25 ml. Thêm 15 ml *methanol 40 % (TT)*, siêu âm 10 min để hòa tan. Bổ sung *methanol 40 % (TT)* đến 25,0 ml. Trộn đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Cột SunFire C18 là phù hợp).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 323 nm.
Nhiệt độ cột: 25 °C.
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)	Acetonitril (% tt/tt)	Dung dịch acid formic 0,1 % (% tt/tt)
0 - 20	8 → 15	92 → 85
20 - 21	15	85
21 - 30	15 → 30	85 → 70
30 - 35	30	70
35 - 36	30 → 95	70 → 5
36 - 39	95	5
39 - 40	95 → 8	5 → 92
40 - 45	8	92

Kiểm tra tính phù hợp hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic cynarin và pic acid chlorogenic không được nhỏ hơn 0,8 và không được lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cynarin và pic acid chlorogenic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %. Thứ tự rửa giải lần lượt là acid chlorogenic, cynarin.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Tính hàm lượng cynarin và acid chlorogenic trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng cynarin chuẩn, acid chlorogenic chuẩn.
Hàm lượng cynarin ($C_{25}H_{24}O_{12}$) không được ít hơn 0,60 % và acid chlorogenic ($C_{16}H_{18}O_9$) không được ít hơn 0,60 % tính theo chế phẩm khô kiệt.
Bảo quản
Trong đồ đựng kín, chống ẩm. Để nơi khô, mát.