

CAO KHÔ CHÈ DÂY

Ampelopsis Folii extractum siccum

Cao khô chè dây được điều chế từ lá của cây Chè dây (*Ampelopsis cantoniensis* Planch.), họ Nho (Vitaceae) bằng phương pháp thích hợp để chế phẩm có tổng hàm lượng myricetin và dihydromyricetin 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, vị đắng hơi chát.

Định tính

A. Lấy khoảng 1,0 g bột chế phẩm cho vào một ống nghiệm, thêm 10 ml *ethanol* 90 % (TT), lắc kỹ, đặt trên cách thủy khoảng 1 min cho tan, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm nhỏ, thêm một ít bột *magnesi* (TT) và 2 giọt *acid hydrochloric* (TT), dung dịch xuất hiện màu đỏ.

B. Trong phần Định lượng, các 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 dihydromyricetin và myricetin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

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

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄* đã hoạt hóa ở 105 °C trong 30 min.

Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic* (5 : 2 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,1 g chế phẩm, thêm 10 ml *ethanol* (TT), lắc siêu âm trong 10 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cặn trong 1 ml *ethanol* (TT) được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột lá Chè dây (mẫu chuẩn), thêm 50 ml *ethanol* 70 % (TT), đun hồi lưu trên cách thủy 30 min, lọc, chiết lại bã như trên 1 lần nữa. Tập trung dịch chiết *ethanol*, cô trên cách thủy đến cạn. Khuấy kỹ cặn với *n-butanol* (TT) 3 lần, mỗi lần 10 ml, lọc, gộp dịch lọc *butanol*, cất thu hồi dung môi đến cạn, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cặn trong 1 ml *ethanol* (TT) được dung dịch chấm sắc ký.

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 12 cm đến 14 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun thuốc thử NP-PEG, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng trong 15 min. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 366 nm.

Thuốc thử NP-PEG: Hòa tan 0,25 g *diphenylboric acid 2-aminoethyl ester* (TT), 1,25 g *polyethylen glycol* 400 (TT) trong 25 ml *methanol* (TT).

Mất khối lượng do làm khô

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, đến khối lượng không đổi).

Kim loại nặng

Không quá 25 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 3).

Dùng 1,0 g chế phẩm và 2,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb* (TT) để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Tro sulfat

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.9).

Giới hạn nhiễm vi sinh vật

Đáp ứng yêu cầu về Giới hạn nhiễm vi sinh vật đối với thuốc đông dược có nguồn gốc từ động, thực vật (Phụ lục 13.6, phương pháp đĩa thạch).

Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không quá 10⁴ CFU/g.

Tổng số nấm: Không quá 10² CFU/g.

Không được có vi khuẩn gây bệnh *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

Cân chính xác khoảng 5 g chế phẩm vào bình nón nút mài 200 ml đã được tiệt trùng và đã cân bì. Thêm một lượng *dung dịch natri clorid* 0,9 % vô trùng vừa đủ để thu được dung dịch có nồng độ 10⁻¹, lắc đều. Từ dung dịch trên pha loãng thành các dung dịch có nồng độ 10⁻², 10⁻³... rồi tiến hành thử theo Phụ lục 13.6.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril - dung dịch acid phosphoric* 0,01 M (25 : 75).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,1 g chế phẩm cho vào một bình định mức 50 ml, thêm khoảng 30 ml *methanol* (TT), lắc siêu âm 15 min, để nguội, thêm *methanol* (TT) đến vạch, lắc đều. Ly tâm lấy dịch trong, hút chính xác 2 ml dịch trong ở phía trên cho vào bình định mức 25 ml, thêm *methanol* (TT) đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan dihydromyricetin và myricetin chuẩn trong *methanol* (TT) để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,04 mg dihydromyricetin trong 1 ml và 0,025 mg myricetin trong 1 ml, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (250 mm × 4 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm). Cột Lichrosorb RP 18 là thích hợp.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 260 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Nhiệt độ phân tích: Nhiệt độ phòng.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic dihydromyricetin và myricetin trên sắc ký đồ của 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %. Thứ tự rửa giải lần lượt là dihydromyricetin, myricetin.

Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Dựa vào diện tích pic của dihydromyricetin và myricetin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử, nồng độ các dung dịch chuẩn để tính hàm lượng dihydromyricetin và myricetin trong chế phẩm.

Tổng hàm lượng dihydromyricetin ($C_{15}H_{12}O_8$) và myricetin ($C_{15}H_{10}O_8$) không dưới 30,0 % (theo khối lượng) tính theo chế phẩm khô kiệt.

Bảo quản

Bảo quản trong đồ đựng kín, để nơi khô ráo thoáng mát.

CAO KHÔ HUYẾT GIÁC

Dracaenae extractum siccum

Cao khô Huyết giác được điều chế từ phần gỗ có chứa nhựa của cây Huyết giác *Dracaena cambodiana* Pierre ex Gagnep hoặc *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S.C.Chen, họ Huyết giác (Dracaenaceae) bằng cách chiết bằng ethanol 96 % hay bằng dung môi thích hợp khác. 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 nâu đỏ, mùi thơm nhẹ đặc trưng, vị hơi chát. Không tan trong nước, ether và các dung dịch acid loãng; tan trong methanol, ethanol và các dung dịch kiềm loãng.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel HF_{254} chứa 0,3 % natri carboxymethylcellulose, hoạt hóa ở 105 °C trong 30 min.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (99 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,5 g chế phẩm, thêm 25 ml ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT) lắc siêu âm trong 15 min. Để nguội, lọc, giữ lại cặn cho phép thử B. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn, hòa cặn trong 1 ml cloroform (TT) được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 3 g bột Huyết giác (mẫu chuẩn) cho vào bình nón, thêm 20 ml ethanol 96 % (TT), lắc siêu âm trong 15 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Thêm vào cặn 25 ml ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT) lắc siêu âm trong 15 min. Để nguội, lọc, giữ lại cặn cho phép thử B. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn, hòa cặn trong 1 ml cloroform (TT) được dung dịch chấm sắc ký.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. 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 acid sulfuric 10 % trong ethanol. Sấy bản mỏng ở 110 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát bản mỏng dưới đèn tử ngoại ở 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.

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

Bản mỏng: Silica gel HF_{254} chứa 0,3 % natri carboxymethylcellulose, hoạt hóa ở 105 °C trong 30 min.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) - ethyl acetat (10 : 1).

Dung dịch thử: Lấy cặn thu được ở phần dung dịch thử trong phép thử A, để trên cách thủy cho bay hơi hết ether dầu hỏa, thêm 25 ml ethyl acetat (TT), lắc siêu âm trong 15 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến khi còn khoảng 5 ml, để nguội rồi chuyển lên cột thủy tinh đường kính khoảng 10 mm có chứa 1 g chất nhồi polyamid đã được xử lý, kích thước hạt 14 - 20 μ m, được nhồi ướt. Rửa giải bằng 100 ml ethanol 50 % (TT) với tốc độ 1,5 ml/min, loại bỏ dịch rửa giải. Tiếp tục rửa giải bằng 50 ml ethanol (TT) với tốc độ 1,5 ml/min, gộp dịch rửa giải, cô trên cách thủy đến cạn, hòa cặn trong 1 ml cloroform (TT) được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy cặn thu được ở phần dung dịch đối chiếu trong phép thử A, tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. 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 acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT). Sấy bản mỏng ở 110 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát bản mỏng dưới đèn tử ngoại ở 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.

Xử lý polyamid: Lấy polyamid vào cốc có mỏ, thêm ethanol 96 % (TT) ngập bề mặt, khuấy đều, sau khi hết bọt khí thì chuyển toàn bộ hỗn hợp vào cột thủy tinh có khóa, đường kính thích hợp (từ 10 mm trở lên), dùng ethanol 90 - 95 % (TT) để rửa cho đến khi dịch rửa trong suốt. Rửa tiếp bằng hỗn hợp dung dịch natri hydroxyd 5 % - nước cất (2,5 : 1) có chứa 2,5 % acid acetic (TT), cuối cùng rửa bằng nước cất đến khi nước rửa trung tính, lấy polyamid đã rửa ra để khô ở nhiệt độ phòng.

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

Bản mỏng: Silica gel 60F₂₅₄, hoạt hóa ở 105 °C trong 30 min.

Dung môi khai triển: Toluene - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,15 g chế phẩm trong 10 ml ethanol 96 % (TT) được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Huyết giác (mẫu chuẩn) cho vào bình nón, thêm 10 ml ethanol 96 % (TT), lắc siêu âm trong 10 min, lọc, dùng dịch lọc làm dung dịch chấm sắc ký.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. 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 acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT). Sấy bản mỏng ở 110 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát bản mỏng ở ánh sáng thường và dưới ánh sáng tử ngoại ở 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.

D. Trong phần định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic có cùng thời gian lưu với thời gian lưu của pic loureirin B trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.