

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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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 60F<sub>254</sub>, 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  $\mu$ 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.

### Độ hấp thụ

Cân chính xác khoảng 20 mg chế phẩm vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml *ethanol* (TT), lắc kỹ để hòa tan, thêm *ethanol* (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Loại bỏ 10 ml dịch lọc đầu, hút chính xác 5,0 ml dịch lọc sau vào bình định mức 100 ml, thêm *ethanol* (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 284 nm, mẫu trắng là *ethanol* (TT).

Độ hấp thụ đo được không được dưới 0,40.

### Cẩn không tan trong ethanol

Không được quá 1,5 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

Cân chính xác khoảng 1,0 g chế phẩm vào bình nón nút mài 100 ml, thêm 50 ml *ethanol* (TT), ngâm trong 30 min, tiếp tục lắc mạnh để hòa tan trong 20 min. Lọc qua giấy lọc (đã được sấy ở 105 °C trong 3 h và cân trước), rửa cẩn bằng *ethanol* (TT) đến khi dịch lọc không màu. Sấy giấy lọc và cẩn ở 105 °C trong 3 h. Để nguội trong bình hút ẩm 30 min và cân nhanh.

### Tro toàn phần

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.8, phương pháp 1).

### Kim loại nặng

Không quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1 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 dung dịch đối chiếu.

### Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 7,0 % (Phụ lục 9.6).

(1 g; 100 °C; 5 h).

### Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

**Pha động:** Dung dịch acid acetic 1 % - acetonitril (61 : 39), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

**Dung dịch thử:** Cân chính xác khoảng 3,5 g chế phẩm vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml *methanol* (TT), lắc siêu âm trong 15 min, để nguội, thêm *methanol* (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ 10 ml dịch lọc đầu, hút chính xác 5,0 ml dịch lọc sau vào bình định mức 50 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

**Dung dịch chuẩn:** Hòa tan Loureirin B chuẩn trong *methanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,45 mg/ml. Hút chính xác 5,0 ml dung dịch trên vào bình định mức 50 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

**Điều kiện sắc ký:**

Cột kích thước (250 mm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm) hoặc tương đương. Cột Inertsil ODS-3 là thích hợp. Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 276 nm.

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 loureirin B 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 và dung dịch thử. Tiến hành sắc ký theo điều kiện đã nêu, ghi lại thời gian lưu, diện tích của pic loureirin B. Dựa vào diện tích pic của loureirin B trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng  $C_{18}H_{20}O_5$  trong loureirin B chuẩn để tính hàm lượng loureirin B trong chế phẩm.

Hàm lượng loureirin B ( $C_{18}H_{20}O_5$ ) trong chế phẩm không ít hơn 0,45 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

### Bảo quản

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

## CAO KHÔ LÁ BẠCH QUẢ

### *Ginkgonis Folii extractum siccum*

Cao khô lá bạch quả được bào chế từ lá cây Bạch quả (*Ginkgo biloba* L.), họ Bạch quả (Ginkgoaceae) theo phương pháp thích hợp để cao khô có hàm lượng hoạt chất ổn định.

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

### Mô tả

Bột hoặc khối bột dễ vụn nát, có màu nâu vàng nhạt hoặc nâu đậm. Vị hơi đắng.

### Định tính

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

**Bản mỏng:** Silica gel  $F_{254}$  (5 - 10 µm).

**Dung môi khai triển:** Ethyl acetat - nước - acid acetic băng - acid formic (67,5 : 17,5 : 7,5 : 7,5).

**Dung dịch đối chiếu:** Hòa tan lần lượt các chất đối chiếu trong *methanol* (TT) để được dung dịch có chứa 0,15 mg/ml rutin, 0,05 mg/ml acid chlorogenic.

**Dung dịch thử:** Hòa tan cao khô trong hỗn hợp *methanol* - nước (4 : 1) để có dung dịch chứa 2 mg cao khô trong 1 ml.

**Thuốc thử 1:** Dung dịch 2-aminoethyl diphenylborinat (TT) trong *methanol* (TT) có nồng độ 5 mg/ml.

**Thuốc thử 2:** Dung dịch polyethylen glycol 400 (TT) trong *ethanol* 96 % (TT) có nồng độ 50 mg/ml.

**Cách tiến hành:**

Chấm riêng biệt 20 µl mỗi dung dịch trên thành vạch lên bản mỏng, để khô vạch chấm. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 17 cm, lấy bản mỏng ra, sấy khô ở 105 °C trong 5 min. Ngay sau khi lấy bản mỏng còn nóng ra, phun thuốc thử 1, tiếp tục phun thuốc thử 2. Để khô trong không khí khoảng 30 min và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và tương đương về vị trí với vết rutin trên sắc ký đồ