

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 μ l 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 chế phẩm.

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

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 cặn 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 cặn 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 cặn thu được trong phép thử A với 2,5 ml *acid acetic* băng (TT), 0,5 ml *acid hydrochloric* (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 GF₂₅₄*.

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 μ l 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 cặn 3 lần, mỗi lần 15 ml *methanol* (TT). Gộp dịch lọc và dịch rửa, thêm 10 ml dung dịch *acid hydrochloric* 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 hydrochloric* 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 hydrochloric* 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 cặn 3 lần, mỗi lần 15 ml *methanol* (TT). Gộp dịch lọc và dịch rửa, thêm 10 ml dung dịch *acid hydrochloric* 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.

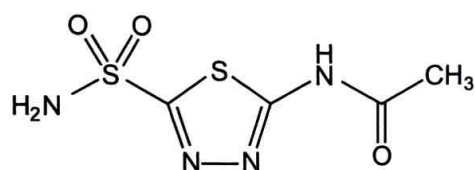
Loại thuốc

Chống đông máu.

Hàm lượng thường dùng

4 mg.

ACETAZOLAMID



$C_4H_6N_4O_3S_2$

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 đa hình màu trắng hay gần như trắng. 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 từ 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 từ 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 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.

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:

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.