

## CETYL ALCOL

**Dung dịch đối chiếu (1):** Hòa tan 60,0 mg cetyl alcol chuẩn trong *ethanol* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

**Dung dịch đối chiếu (2):** Hòa tan 40,0 mg stearyl alcol chuẩn trong *ethanol* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

**Dung dịch đối chiếu (3):** Trộn 1 ml dung dịch đối chiếu (1) với 1 ml dung dịch đối chiếu (2) và pha loãng thành 10,0 ml bằng *ethanol* (TT).

**Điều kiện sắc ký:**

Cột kích thước (3 m × 4 mm) được nhồi *diatomit dùng cho sắc ký khí* (TT) tẩm 10 % (kl/kl) *poly(dimethyl) siloxan* (TT).

Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký khí* (TT).

Lưu lượng khí: 30 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ cột 200 °C, nhiệt độ buồng tiêm và detector 250 °C.

Thể tích tiêm: 2 µl.

**Cách tiến hành:**

Điều chỉnh tốc độ dòng sao cho độ phân giải của 2 pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử không nhỏ hơn 1,25. Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), tỷ số tín hiệu trên nhiều ít nhất là 5 đối với 2 pic chính.

Xác định hàm lượng cetyl alcol và stearyl alcol từ sắc ký đồ của dung dịch thử bằng phương pháp chuẩn hóa. Định tính các pic bằng cách so sánh với sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2).

### Bảo quản

Bao bì kín, tránh ánh sáng.

### Loại thuốc

Tá dược.

## CETYL ALCOL

Cetyl alcol là hỗn hợp các alcol rắn, chủ yếu chứa hexadecan-1-ol (C<sub>16</sub>H<sub>34</sub>O; p.t.l: 242,4), có nguồn gốc từ động vật hoặc thực vật. Chứa ít nhất 95,0 % C<sub>16</sub>H<sub>34</sub>O.

### Tính chất

Khối nhờn, bột, mảnh hay hạt màu trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, hơi tan đến dễ tan trong *ethanol* 96 %. Khi đun chảy, hỗn hợp có thể hòa lẫn với dầu thực vật, mỡ động vật, parafin lỏng và lanolin nóng chảy.

### Định tính

Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ dung dịch thử phải giống với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1).

### Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 20 ml *ethanol* 96 % (TT) sôi, để nguội. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2)

## DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI

và không được đậm màu hơn màu mẫu N<sub>6</sub> (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

### Nhiệt độ nóng chảy

Từ 46 °C đến 52 °C (Phụ lục 6.7).

### Chỉ số acid

Không được quá 1,0 (Phụ lục 7.2).

### Chỉ số hydroxyl

Từ 218 đến 238 (Phụ lục 7.4, phương pháp A).

### Chỉ số iod

Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.5, phương pháp A).

Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *methylen clorid* (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

### Chỉ số xà phòng hóa

Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.7).

### Định lượng

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

**Dung dịch thử:** Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

**Dung dịch đối chiếu (1):** Hòa tan 50 mg cetyl alcol chuẩn trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

**Dung dịch đối chiếu (2):** Hòa tan 50 mg *stearyl alcol* (TT) trong *ethanol* 96 % (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

**Dung dịch đối chiếu (3):** Trộn đều 1 ml dung dịch đối chiếu (1) và 1 ml dung dịch đối chiếu (2) và pha loãng thành 10,0 ml bằng *ethanol* 96 % (TT).

**Điều kiện sắc ký:**

Cột (30 m × 0,32 mm) được phủ pha tĩnh *poly(dimethyl) siloxan* (độ dày phim 1 µm).

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 100.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Nhiệt độ:

|            | Thời gian<br>(min) | Nhiệt độ<br>(°C) |
|------------|--------------------|------------------|
| Cột        | 0 - 20             | 150 → 250        |
|            | 20 - 40            | 250              |
| Buồng tiêm |                    | 250              |
| Detector   |                    | 250              |

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 µl.

**Cách tiến hành:**

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (3).

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của cetyl alcol và pic của stearyl alcol ít nhất là 5,0.

Tính hàm lượng  $C_{16}H_{34}O$  theo diện tích pic của cetyl alcol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

#### Bảo quản

Bao bì kín, tránh ánh sáng.

#### Loại thuốc

Tá dược.

### CHYMOTRYPSIN

Chymotrypsin là enzym thủy phân protein được kết tinh từ dịch chiết tuyến tụy bò, *Bos taurus* Linné (Fam. Bovidae). Chế phẩm phải chứa không ít hơn 1000 đơn vị chymotrypsin trong mỗi mg, tính theo chế phẩm đã làm khô và phải chứa từ 90,0 % đến 110,0 % so với hoạt lực ghi trên nhãn.

#### Tính chất

Bột kết tinh hoặc bột vô định hình màu trắng. Hơi tan trong nước. Dạng bột vô định hình dễ hút ẩm.

#### Định tính

A. Lấy khoảng 10 mg chế phẩm, hòa tan trong 10 ml nước đun sôi để nguội. Lấy 0,05 ml dung dịch thu được cho vào khay sứ trắng, thêm 0,2 ml dung dịch cơ chất. Màu đỏ tím xuất hiện trong vòng 3 min.

Dung dịch cơ chất: Cân chính xác 237,0 mg acetyltyrosin ethyl ester (TT) cho vào bình định mức 100 ml, thêm 2 ml ethanol 96 % (TT), lắc đến khi tan. Thêm 20 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (chuẩn bị trong phần Định lượng), thêm 1 ml dung dịch đỏ methyl - xanh methylen rồi pha loãng với nước vừa đủ đến vạch.

Dung dịch đỏ methyl - xanh methylen: Trộn đồng thể tích dung dịch đỏ methyl 0,1 % trong ethanol 96 % và dung dịch xanh methylen 0,05 % trong ethanol 96 %.

B. Lấy khoảng 30 mg chế phẩm hòa tan trong dung dịch acid hydrocloric 0,001 M, pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ từ ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 220 đến 320 nm phải có cực đại ở bước sóng khoảng 281 nm và cực tiểu ở bước sóng khoảng 250 nm.

#### Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).  
(1,00 g; 60 °C; trong chân không; 4 h).

#### Tro sulfat

Không được quá 2,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).  
Dùng 0,100 g chế phẩm.

#### Trypsin

Không được quá 1 % (kl/kl).

Dung dịch thử: Hòa tan 100 mg chế phẩm trong 10,0 ml nước.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch trypsin trong nước có nồng độ 0,01 %.

Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan pH 8,1 (0,08 M): Hòa tan 294 mg calci clorid (TT) trong 40 ml dung dịch tris(hydroxymethyl)aminomethan 0,20 M, điều chỉnh pH đến 8,1 bằng dung dịch acid hydrocloric 1 N (TT) và pha loãng thành 100 ml với nước.

Dung dịch cơ chất: Cân 98,5 mg tosylarginin methyl ester hydroclorid (TT), cho vào bình định mức dung tích 25 ml. Thêm 5 ml dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan pH 8,1 và lắc cho đến khi hòa tan cơ chất. Thêm 0,25 ml dung dịch đỏ methyl - xanh methylen (pha ở phần Định tính) và thêm nước vừa đủ đến vạch.

Cách tiến hành:

Dùng micro pipet lấy 50 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu cho vào hai khay sứ trắng riêng biệt, thêm 0,2 ml dung dịch cơ chất vào mỗi dung dịch. Trong vòng 3 phút, khay sứ chứa dung dịch thử không được có màu đỏ tím tạo thành, khay sứ chứa dung dịch đối chiếu cho màu đỏ tím.

#### Định lượng

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (0,067 M): Hòa tan 4,54 g kali dihydrophosphat (TT) trong nước và pha loãng vừa đủ 500 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Hòa tan 4,73 g dinatri hydrophosphat khan (TT) trong nước và pha loãng vừa đủ 500 ml với cùng dung môi (dung dịch B). Trộn 38,9 ml dung dịch A với 61,1 ml dung dịch B. Điều chỉnh tới pH 7,0 bằng cách thêm từng giọt dung dịch B nếu cần.

Dung dịch cơ chất: Hòa tan 23,7 mg acetyltyrosin ethyl ester (TT) (loại thích hợp để dùng định lượng chymotrypsin) trong khoảng 50 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 bằng cách làm ấm. Để nguội, thêm dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ 100 ml.

Lưu ý: Có thể bảo quản đông lạnh dung dịch cơ chất và được sử dụng sau khi rã đông, nhưng phải làm đông lạnh ngay sau khi pha.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm thích hợp (W) và hòa tan trong dung dịch acid hydrocloric 0,0012 M để thu được dung dịch có nồng độ từ 12 - 16 đơn vị chymotrypsin trong 1 ml. Dùng dung dịch có nồng độ thấp hơn hoặc cao hơn nếu cần sao cho trong quá trình định lượng sự thay đổi độ hấp thụ trong khoảng từ 0,008 đến 0,012 trong mỗi 30 s.

Cách tiến hành:

Định lượng bằng máy quang phổ từ ngoại thích hợp, có hệ thống điều nhiệt để duy trì nhiệt độ buồng chứa cốc đo ở  $25 \pm 0,1$  °C. Xác định nhiệt độ trong cốc đo trước và sau khi đo độ hấp thụ để đảm bảo nhiệt độ không thay đổi quá 0,5 °C. Hút chính xác 0,2 ml dung dịch acid hydrocloric 0,0012 M và 3,0 ml dung dịch cơ chất vào cốc đo dày 1 cm. Đặt cốc đo vào máy quang phổ từ ngoại và điều chỉnh thiết bị để có độ hấp thụ là 0,200 ở 237 nm.

Hút chính xác 0,2 ml dung dịch thử cho vào cốc đo dày 1 cm, thêm 3,0 ml dung dịch cơ chất, trộn đều. Đặt cốc đo vào máy quang phổ từ ngoại và đo ngay độ hấp thụ.

Đo độ hấp thụ sau mỗi 30 s trong ít nhất 5 min. Lập lại thí nghiệm cùng độ pha loãng ít nhất một lần. Giá trị tuyệt đối