

Chất dương tính với ninhydrin

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

Bản mỏng: *Silica gel*.

Dung môi khai triển: *Butanol - acid acetic băng - nước* (60 : 20 : 20).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 50 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg histidin hydroclorid monohydrat chuẩn trong nước và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg histidin hydroclorid monohydrat chuẩn và 10 mg prolin chuẩn trong nước và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Làm khô vết chấm bằng luồng không khí. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT). Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào, ngoài vết chính không được đậm màu hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho 2 vết tách rõ ràng.

Sulfat

Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).

Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng nước và tiến hành thử.

Amoni

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.1).

Lấy 50 mg chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp B. Dùng 0,1 ml dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4 (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Trong một bình gạn, hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TT). Chiết 3 lần, mỗi lần với 10 ml methyl isobutyl keton (TT₁) và lắc trong 3 min. Gộp các lớp dung môi hữu cơ đã chiết, thêm 10 ml nước và lắc trong 3 min. Lấy lớp nước và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 7,0 % đến 10,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 145 °C đến 150 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,160 g chế phẩm trong 50 ml nước không có carbon dioxyd (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) tương đương với 19,16 mg $\text{C}_7\text{H}_8\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}_2$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

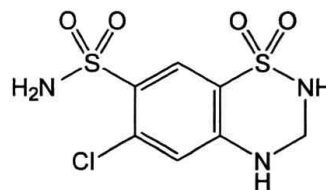
Loại thuốc

Acid amin.

Chế phẩm

Viên nén, nang, thuốc tiêm.

HYDROCLOROTHIAZID



$\text{C}_7\text{H}_8\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}_2$

P.t.l: 297,7

Hydroclorothiazid là 6-cloro-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioxyd, phải chứa từ 97,5 % đến 102,0 % $\text{C}_7\text{H}_8\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}_2$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh đa hình màu trắng hoặc gần như trắng.

Rất khó tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, tan trong aceton, tan trong dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

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 hydroclorothiazid chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm và chất chuẩn ở trạng thái rắn khác nhau, hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chuẩn trong ethanol (TT₁), bốc hơi đến khô, ghi phổ của cần thu được.

B. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 10 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng nước. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT). Đo phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 250 nm đến 350 nm, dung dịch phải có cực đại hấp thụ ở các bước sóng 273 nm và 323 nm. Tỷ số giữa độ hấp

thụ đo được tại bước sóng 273 nm và tại bước sóng 323 nm phải từ 5,4 đến 5,7.

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

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *acetone (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg hydrochlorothiazid chuẩn trong *acetone (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg clorothiazid chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 μ l mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 1/2 bản mỏng. Để khô bản mỏng trong không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách biệt rõ ràng.

D. Đun nóng nhẹ khoảng 1 mg chế phẩm với 2 ml dung dịch mới pha có chứa 0,05 % muối natri của acid chromotropic (TT) trong hỗn hợp đã nguội gồm 35 thể tích nước và 65 thể tích acid sulfuric (TT). Có màu tím xuất hiện.

Giới hạn acid - kiềm

Lắc 0,5 g chế phẩm dạng bột với 25 ml nước trong 2 min và lọc. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 0,2 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ) và 0,15 ml dung dịch đỏ methyl (TT). Dung dịch phải có màu vàng. Lượng dung dịch acid hydrochloric 0,01 N (CĐ) cần dùng để làm dung dịch chuyển sang màu đỏ không quá 0,4 ml.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Thêm 60,0 ml methanol (TT₂) và 10,0 ml tetrahydrofuran (TT) vào 940 ml dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT₁) và trộn đều.

Pha động B: Thêm 50,0 ml tetrahydrofuran (TT) vào hỗn hợp gồm 500 ml methanol (TT₂) và 500 ml dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT₁) và trộn đều.

Hỗn hợp dung môi: Pha loãng 50,0 ml hỗn hợp đồng thể tích của acetonitril (TT₁) và methanol (TT₂) thành 200,0 ml bằng dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT₁).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong 5 ml hỗn hợp đồng thể tích của acetonitril (TT₁) và methanol (TT₂), siêu âm nếu cần, sau đó pha loãng thành 20,0 ml bằng dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT₁).

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 20,0 ml bằng dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT₁).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 3,0 mg clorothiazid chuẩn (tạp chất A) và 3 mg hydrochlorothiazid chuẩn trong 5 ml hỗn hợp đồng thể tích của acetonitril (TT₁) và methanol (TT₂), siêu âm nếu cần, sau đó pha loãng thành 20,0 ml

bằng dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT₁). Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 30,0 mg hydrochlorothiazid chuẩn trong 5 ml hỗn hợp đồng thể tích của acetonitril (TT₁) và methanol (TT₂), siêu âm nếu cần, và pha loãng thành 20,0 ml bằng dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT₁). Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT₁).

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 3 mg hydrochlorothiazid chuẩn dùng để định tính pic (chứa các tạp chất B và C) trong 0,5 ml hỗn hợp đồng thể tích của acetonitril (TT₁) và methanol (TT₂), siêu âm nếu cần, và pha loãng thành 2,0 ml bằng dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT₁).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 224 nm.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1), (2) và (4).

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 17	100 $\rightarrow$ 55	0 $\rightarrow$ 45
17 - 30	55	45

Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất A. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo hydrochlorothiazid chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của các tạp chất B và C.

Thời gian lưu tương đối so với hydrochlorothiazid (thời gian lưu khoảng 8 min): Tạp chất B khoảng 0,7; tạp chất A khoảng 0,9; tạp chất C khoảng 2,8.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của hydrochlorothiazid ít nhất là 2,5.

Giới hạn:

Tạp chất A, B, C: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Tạp đơn khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,5 lần

VIÊN NÉN HYDROCHLOROTHIAZID

diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 6-Chloro-2H-1,2,4-benzothiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioxyd (clorothiazid).

Tạp chất B: 4-Amino-6-clorobenzen-1,3-disulfonamid (salamid).

Tạp chất C: 6-Chloro-N-[(6-cloro-7-sulfamoyl-2,3-dihydro-4H-1,2,4-benzothiadiazin-4-yl 1,1-dioxyd)methyl]-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioxyd.

Clorid

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 25 ml *aceton* (TT) và pha loãng thành 30 ml bằng *nước*. Dùng 15 ml dung dịch thu được để thử.

Dung dịch đối chiếu: Thêm 5 ml *aceton* (TT) chứa 15 % (tt/tt) *nước* vào 10 ml *dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl* (TT).

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 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký và các dung dịch như mô tả trong phần Tạp chất liên quan với một số thay đổi sau:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 4	80	20
4 - 10	80 → 20	20 → 80

Tốc độ dòng: 1,6 ml/min.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1) và (3).

Thời gian lưu tương đối so với hydroclorothiazid (thời gian lưu khoảng 2,2 min): Tạp chất A khoảng 0,9.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của hydroclorothiazid ít nhất là 2,0.

Tính hàm lượng của $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng của $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ trong hydroclorothiazid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Lợi tiểu thiazid.

Chế phẩm

Viên nén.

DUỐC ĐIỂN VIỆT NAM VI

VIÊN NÉN HYDROCHLOROTHIAZID

Là viên nén chứa hydroclorothiazid.

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 hydroclorothiazid, $C_7H_8ClN_3O_4S_2$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột viên đã nghiền nhỏ có chứa 10 mg hydroclorothiazid với 10 ml *aceton* (TT), lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha dung dịch hydroclorothiazid chuẩn 0,1 % trong *aceton* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra làm khô bằng một luồng khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Sau đó tiếp tục phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric 20 % trong ethanol 96 %* (TT). Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 30 min và ngay lập tức đặt vào bình thủy tinh kín chứa hơi acid nitric trong 15 min [hơi acid nitric có thể được tạo ra bằng cách nhỏ từng giọt *dung dịch acid sulfuric 7 M* (TT) vào một dung dịch chứa 10 % *natri nitrit* (TT) và 3 % *kali iodid* (TT)]. Đặt bản mỏng dưới một luồng khí ẩm trong 15 min và phun *dung dịch N-(1-naphthyl) ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % trong ethanol 96 %*. Nếu cần, để khô và phun lại một lần nữa. Ở mỗi cách phát hiện, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và độ đậm với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Tetrahydrofuran - methanol - *dung dịch đệm phosphat pH 3,2* (TT₁) (10 : 60 : 940).

Pha động B: Tetrahydrofuran - methanol - *dung dịch đệm phosphat pH 3,2* (TT₁) (50 : 500 : 500).

Dung dịch thử: Chiết một lượng bột thuốc đã nghiền chứa 50 mg hydroclorothiazid với 25 ml hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril* (TT) và *methanol* (TT) (dung môi A) và pha loãng thành 100 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 3,2* (TT₁). Lọc qua phễu lọc sợi thủy tinh (Whatman 0,45 µ GD/X là loại thích hợp).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp *methanol - acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 3,2* (TT₁) (1 : 1 : 2).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 15 mg hydroclorothiazid chuẩn và 15 mg clorothiazid chuẩn trong 25 ml dung môi A rồi pha loãng thành 100 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 3,2* (TT₁). Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với dung môi A.