

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 μm) (Cột Phenosphere ODS 3 μ là phù hợp).

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

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột ít nhất 20 min bằng pha động A. Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Chú thích
0 - 17	100 → 55	0 → 45	Gradient tuyến tính
17 - 30	55	45	Đẳng dòng
30 - 35	55 → 100	45 → 0	Gradient tuyến tính
35 - 50	100	0	Đẳng dòng
50 = 0	100	0	Trở về thành phần dung môi ban đầu

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic hydroclorothiazid và clorothiazid không nhỏ hơn 2,5. Nếu cần thì điều chỉnh tỉ lệ pha động hoặc chương trình thời gian của gradient tuyến tính.

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1 %) và tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (2,5 %).

Bỏ qua bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 30 mg hydroclorothiazid, thêm 50 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, lắc 20 min và thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* đến vừa đủ 100 ml. Lắc đều, lọc, hút chính xác 5 ml dịch lọc pha loãng đến vừa đủ 100 ml bằng *nước*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở cực đại 273 nm.

Tính hàm lượng hydroclorothiazid, $C_7H_8ClN_3O_4S_2$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 520 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 273 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

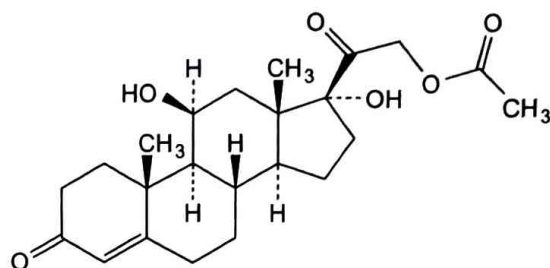
Loại thuốc

Thuốc lợi tiểu.

Hàm lượng thường dùng

25 mg, 100 mg.

HYDROCORTISON ACETAT



$C_{23}H_{32}O_6$

P.t.l: 404,5

Hydrocortison acetat là 11β,17-dihydroxy-3,20-dioxopregn-4-en-21-yl acetat, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{23}H_{32}O_6$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.

Thực tế không tan trong nước, khó tan trong ethanol khan và methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của hydrocortison acetat chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Trộn đều hỗn hợp gồm 1,2 thể tích *nước*, 8 thể tích *methanol (TT)* với hỗn hợp gồm 15 thể tích *ether (TT)* và 77 thể tích *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)*, pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch thử (2): Lấy 2 ml dung dịch A cho vào ống nghiệm thủy tinh 15 ml có nút thủy tinh mài hoặc nắp bằng polytetrafluoroethylen. Thêm 10 ml *dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol (TT)* và ngay lập tức sục khí *nitrogen (TT)* đi qua trong 5 min. Đậy nút ống nghiệm. Đun nóng trong cách thủy ở 45 °C trong 2 h 30 min, tránh ánh sáng. Sau đó để nguội.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg hydrocortison acetat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi (dung dịch B). Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 2 ml dung dịch B cho vào ống nghiệm thủy tinh 15 ml có nút thủy tinh mài hoặc nắp bằng polytetrafluoroethylen. Thêm 10 ml *dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol (TT)* và ngay lập tức sục khí *nitrogen (TT)* đi qua trong 5 min. Đậy nút ống nghiệm. Đun cách thủy ở 45 °C trong 2 h 30 min, tránh ánh sáng. Sau đó để nguội.

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 3/4 bản mỏng, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trong mỗi sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng.

Phun dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT) và sấy bản mỏng ở 120 °C trong 10 min, hoặc cho đến khi vết hiện rõ, để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên mỗi sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có giá trị R_f thấp hơn rõ rệt giá trị R_f của vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

C. Trong mục Định lượng: Pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải có thời gian lưu và diện tích tương tự thời gian lưu và diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4).

D. Thêm khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml acid sulfuric (TT) và lắc đến khi tan. Trong vòng 5 min, màu đỏ nâu đậm dần lên có kèm ánh huỳnh quang xanh, huỳnh quang sẽ rõ hơn khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Thêm vào dung dịch 10 ml nước và trộn đều. Màu sẽ nhạt dần và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại không bị mất.

E. Khoảng 10 mg chế phẩm cho phản ứng của nhóm acetyl (Phụ lục 8.1).

Góc quay cực riêng

Từ +158° đến +167°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong dioxan (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tiến hành thử trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: Trộn đều 400 ml acetonitril (TT) với 550 ml nước, để cân bằng rồi thêm nước vừa đủ 1000 ml, trộn đều lại.

Hỗn hợp dung môi: Acid acetic - nước - methanol (1 : 10 : 90).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg hydrocortison acetat chuẩn và 2 mg prednisolon acetat chuẩn (tạp chất C) trong hỗn hợp dung môi và pha loãng 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 thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg hydrocortison acetat chuẩn dùng để định tính pic (chứa các tạp chất A, B, D, E và G) trong 2,0 ml hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 25,0 mg hydrocortison acetat chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel* dùng cho sắc ký (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1), (2) và (3). Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của hydrocortison acetat.

Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo hydrocortison acetat chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của các tạp chất A, B, D, E và G. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất C.

Thời gian lưu tương đối so với hydrocortison acetat (thời gian lưu khoảng 10 min): Tạp chất A khoảng 0,4; tạp chất B khoảng 0,7; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất D khoảng 1,2; tạp chất G khoảng 1,8; tạp chất E khoảng 2,3.

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 C và pic của hydrocortison acetat ít nhất là 1,5.

Giới hạn:

Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn 6 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,6 %).

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

Tạp chất B, D, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

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 15 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI

Ghi chú:

Tạp chất A: 11 β ,17,21-Trihydroxypregn-4-en-3,20-dion (hydrocortison).

Tạp chất B: 11 β ,17-Dihydroxypregn-4-en-3,20-dion (oxenol).

Tạp chất C: 11 β ,17-Dihydroxy-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl acetat (prednisolon acetat).

Tạp chất D: 17-Hydroxy-3,11,20-trioxopregn-4-en-21-yl acetat (cortison acetat).

Tạp chất E: 17-Hydroxy-3,20-dioxopregna-4,9(11)-dien-21-yl acetat.

Tạp chất F: 11 α ,17-Dihydroxy-3,20-dioxopregn-4-en-21-yl acetat (*epi*-hydrocortison acetat).

Tạp chất G: 17-Hydroxy-3,20-dioxopregn-4-en-11 β ,21-diyl diacetat.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; chân không; 60 °C; 3 h).

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

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của hydrocortison acetat.

Thời gian lưu của hydrocortison acetat khoảng 10 min.

Tính hàm lượng của C₂₃H₃₂O₆ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (4) và hàm lượng của C₂₃H₃₂O₆ trong hydrocortison acetat chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống viêm steroid.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, kem, thuốc mỡ.

THUỐC MỠ HYDROCORTISON ACETAT

Là thuốc mỡ dùng ngoài, để bôi trên da có chứa hydrocortison acetat. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc” (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng hydrocortison acetat, C₂₃H₃₂O₆, từ 90,0 % đến 110 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic hydrocortison acetat trong sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

THUỐC MỠ HYDROCORTISON ACETAT

Dung môi khai triển: Dicloromethan - ether - methanol - nước (77 : 15 : 8 : 1,2).

Thuốc mỡ có chứa trên 0,5 % (kl/kl) hydrocortison acetat

Dung dịch thử: Phân tán một lượng chế phẩm có chứa 25 mg hydrocortison acetat trong 5 ml *hexan* (TT) nóng, làm nguội, chiết với 10 ml *methanol* 90 % và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Sử dụng một hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch thử ở trên và một dung dịch có chứa 0,25 % hydrocortison acetat chuẩn trong *methanol* (TT).

Thuốc mỡ có chứa không lớn hơn 0,5 % (kl/kl) hydrocortison acetat

Dung dịch thử: Phân tán một lượng chế phẩm có chứa 5 mg hydrocortison acetat trong 5 ml *hexan* (TT) nóng, làm nguội, chiết với 10 ml *methanol* 90 % và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Sử dụng một hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch thử ở trên và một dung dịch có chứa 0,05 % hydrocortison acetat chuẩn trong *methanol* (TT).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt 5 μ l mỗi một dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun thuốc thử hiện màu *dung dịch xanh tetrazolium* (TT). Vết chính trên sắc ký đồ thu được với dung dịch thử phải phù hợp về vị trí và màu sắc với vết chính trong sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu chỉ cho một vết chồng lên nhau của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - nước (1 : 1).

Thuốc mỡ có chứa trên 0,5 % (kl/kl) hydrocortison acetat

Dung dịch chuẩn nội: Dung dịch betamethason 0,5 % trong *methanol* (TT).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 25 mg hydrocortison acetat chuẩn, hòa tan trong 45 ml *methanol* (TT) thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và thêm *nước* vừa đủ 100,0 ml.
Dung dịch thử: Phân tán một lượng chế phẩm cân chính xác có chứa khoảng 25 mg hydrocortison acetat trong 100 ml *hexan* (TT) nóng, để nguội và chiết với 20 ml hỗn hợp được chuẩn bị bằng cách trộn 3 thể tích *methanol* (TT) và 1 thể tích *dung dịch natri clorid* 15 %. Tiếp tục chiết 2 lần nữa, mỗi lần 10 ml với cùng một dung môi chiết trên. Gộp các dịch chiết, thêm 5 ml *methanol* (TT) và thêm *nước* vừa đủ tới 100,0 ml. Trộn và lọc qua giấy lọc thủy tinh (Whatman GF/C là phù hợp).

Thuốc mỡ có chứa không lớn hơn 0,5 % (kl/kl) hydrocortison acetat

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 5 mg hydrocortison acetat chuẩn, hòa tan trong 45 ml *methanol* (TT), thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội betamethason 0,110 % trong *methanol* (TT) và thêm *nước* vừa đủ 100,0 ml.

Dung dịch thử: Chuẩn bị một dung dịch thử theo cùng một cách như trên, nhưng sử dụng một lượng chế phẩm có chứa 5 mg hydrocortison acetat.