

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 20 ml bằng *acetonitril* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel* dùng cho sắc ký (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 238 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic chính.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của triamcinolon acetonid với pic của fluocinolon acetonid ít nhất là 3,0; trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), tỉ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 10 đối với pic chính.

Giới hạn:

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1 %).

Không được có quá 1 pic phụ có diện tích lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).

Nước

Từ 7,0 % đến 8,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,5 g chế phẩm.

Định lượng

Tiến hành theo Phụ lục 10.8: Định lượng các steroid bằng tetrazolin.

Tính hàm lượng $C_{24}H_{30}F_2O_6$ từ độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{24}H_{30}F_2O_6$ trong fluocinolon acetonid chuẩn đã dùng.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống viêm steroid.

Chế phẩm

Kem, thuốc mỡ.

KEM FLUOCINOLON

Là kem bôi trên da có chứa fluocinolon acetonid hoặc fluocinolon acetonid dihydrat.

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 fluocinolon, $C_{24}H_{30}F_2O_6$, từ 90,0 % đến 110 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Thuốc kem có màu trắng hoặc trắng hơi ngà, đồng nhất.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic fluocinolon acetonid trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *n-Hexan - cloroform - methanol - triethylamin* (60 : 40 : 10 : 1).

Dung dịch thử: Lắc một lượng chế phẩm có chứa khoảng 0,25 mg fluocinolon acetonid với 2 ml *cloroform* (TT), thêm 10 ml *methanol* (TT), lắc mạnh. Làm lạnh trong nước đá 15 min, ly tâm 3000 r/min trong 15 min. Gạn lấy dịch trong phía trên. Làm bay hơi dung dịch thu được tới khô trên cách thủy. Hòa tan cặn trong 1 ml *cloroform* (TT).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch fluocinolon acetonid chuẩn 0,025 % trong *cloroform* (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl 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, sấy ở 105 °C trong 5 min. Phun *dung dịch xanh tetrazolium* (TT) lên bản mỏng còn nóng. Quan sát dưới ánh sáng thường. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về màu sắc và vị trí với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *n-Hexan - cloroform - methanol - acid acetic* (58 : 40 : 2 : 0,1).

Dung dịch A: Trộn đều 80 thể tích *methanol* (TT) vào 20 thể tích *dung dịch lithi clorid* 25 %.

Chuẩn bị các dung dịch sắc ký:

Thuốc kem có hàm lượng fluocinolon acetonid từ 0,025 % đến 0,20 %.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch có chứa 0,025 % fluocinolon acetonid chuẩn và 0,005 % phenacetin (chuẩn nội) trong *cloroform* (TT).

Dung dịch thử (1a): Lấy một lượng chế phẩm có chứa khoảng 2,5 mg fluocinolon acetonid. Thêm 60 ml dung dịch A và phân tán bằng cách lắc mạnh. Thêm 100 ml

cyclohexan (TT), lắc nhẹ nhàng trong 2 min, để tách lớp. Tách lấy lớp nước - methanol một cách cẩn thận, tránh không để các tiểu phân rắn ở bề mặt giữa hai lớp lẫn vào. Tiến hành chiết một lần nữa như trên với 25 ml dung dịch A. Gộp các dịch chiết nước - methanol, thêm một dung dịch chứa 11 g *phèn chua* (TT) trong 214 ml nước, sau đó thêm 50 ml *cloroform* (TT). Lắc mạnh 3 min, để tách lớp và lọc lớp *cloroform* qua giấy lọc đã thấm ướt trước bằng *cloroform* (TT) (giấy lọc Whatman số 1 là phù hợp), chú ý tránh không để các tiểu phân rắn ở bề mặt giữa hai lớp lẫn vào. Tiếp tục chiết như trên với lần lượt 50 ml và 10 ml *cloroform* (TT). Lọc các dịch chiết *cloroform* qua cùng một giấy lọc trên. Bốc hơi dịch lọc tới khô trên cách thủy. Hòa tan cẩn thận được trong 5 ml *cloroform* (TT) và chuyển vào bình định mức 10 ml với sự trợ giúp của *cloroform* (TT), pha loãng bằng *cloroform* (TT) vừa đủ 10 ml.

Dung dịch thử (2): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1a), nhưng thêm 1,0 ml dung dịch phenacetin 0,050 % vào dung dịch *cloroform* trước khi pha loãng vừa đủ 10 ml.

Thuốc kem có hàm lượng fluocinolon acetonid 0,01 %

Dung dịch chuẩn: Dung dịch có chứa 0,01 % fluocinolon acetonid chuẩn và 0,002 % phenacetin (chuẩn nội) trong *cloroform* (TT).

Dung dịch thử (1): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1a) ở trên, nhưng sử dụng một lượng chế phẩm có chứa khoảng 1 mg fluocinolon acetonid.

Dung dịch thử (2): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1), nhưng thêm 1,0 ml dung dịch phenacetin 0,02 % vào dung dịch *cloroform* trước khi pha loãng vừa đủ 10 ml.

Thuốc kem có hàm lượng fluocinolon acetonid 0,00625 %

Dung dịch chuẩn: Dung dịch có chứa 0,00625 % fluocinolon acetonid chuẩn và 0,00125 % phenacetin (chuẩn nội) trong *cloroform* (TT).

Dung dịch thử (1): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1a) ở trên, nhưng sử dụng một lượng chế phẩm có chứa khoảng 0,62 mg fluocinolon acetonid.

Dung dịch thử (2): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1), nhưng thêm 1,0 ml dung dịch phenacetin 0,0125 % vào dung dịch *cloroform* trước khi pha loãng vừa đủ 10 ml.

Thuốc kem có hàm lượng fluocinolon acetonid 0,0025 %

Dung dịch chuẩn: Dung dịch có chứa 0,0025 % fluocinolon acetonid chuẩn và 0,0005 % phenacetin (chuẩn nội) trong *cloroform* (TT).

Dung dịch thử (1): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1a) ở trên, nhưng sử dụng một lượng chế phẩm có chứa 0,25 mg fluocinolon acetonid.

Dung dịch thử (2): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1), nhưng thêm 1,0 ml dung dịch phenacetin 0,005 % vào dung dịch *cloroform* trước khi pha loãng vừa đủ 10 ml.

Điều kiện sắc ký :

Cột kích thước (20 cm × 5 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm) (Spherisorb ODS 1 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 243 nm.

Tốc độ dòng: 1,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với các dung dịch chuẩn và các dung dịch thử. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải (R_s) giữa các pic fluocinolon acetonid và phenacetin phải lớn hơn 2, và các thừa số dung lượng (k') của fluocinolon acetonid và phenacetin lần lượt là khoảng 3 và 2. Nếu các điều kiện trên không đạt được thì điều chỉnh nồng độ methanol trong pha động, tăng nồng độ methanol để giảm k' và giảm nồng độ methanol để tăng k' . Nếu điều chỉnh như vậy mà vẫn không đạt được các điều kiện quy định thì cột sắc ký không phù hợp. Nếu giá trị k' thu được nằm trong điều kiện quy định nhưng giá trị R_s dưới 2 thì giảm 5 % nồng độ *cloroform* trong pha động để tăng thời gian lưu của cả fluocinolon acetonid và phenacetin và điều chỉnh lại giá trị k' tới các trị số quy định bằng cách tăng nồng độ methanol. Lặp lại quá trình điều chỉnh *cloroform* và methanol cho tới khi thu được các giá trị R_s và k' phù hợp.

Tính hàm lượng (%) fluocinolon acetonid, $C_{24}H_{30}F_2O_6$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{24}H_{30}F_2O_6$ trong fluocinolon acetonid chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Thuốc chống viêm steroid dùng tại chỗ.

Hàm lượng thường dùng

0,01 %, 0,025 %, 0,05 %.

DUNG DỊCH FORMALDEHYD

Formalin

CH_2O

P.t.l: 30,03

Dung dịch formaldehyd (35 %) phải chứa từ 34,5 % đến 38,0 % (kl/kl) formaldehyd (CH_2O), có chứa methanol làm chất bảo quản.

Tính chất

Chất lỏng trong, không màu.

Trộn lẫn được với nước và ethanol 96 %. Có thể bị đục trong quá trình bảo quản.

Định tính

A. Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 10 ml bằng nước. Lấy 0,05 ml dung dịch thu được, thêm 1 ml dung dịch muối natri của acid chromotropic 1,5 %, 2 ml nước và 8 ml acid sulfuric đậm đặc (TT). Màu xanh tím hoặc đỏ tím xuất hiện trong vòng 5 min.