

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch pha loãng 10 lần của dung dịch S để thử.

Dung dịch chuẩn: Các dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng từ *dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu Zn (TT)* bằng *dung dịch acid hydrochloric không có chì 1 % (tt/tt)*.

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 213,9 nm, dùng đèn cathod rỗng kẽm làm nguồn phát xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 7,5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ. Để nguội và thêm 25 ml nước, 0,1 ml *dung dịch ferroin sulfat (TT)*. Chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* đến khi màu chuyển từ da cam sang lục lam nhạt.

1 ml *dung dịch ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 16,99 mg $C_4H_2FeO_4$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Phòng và điều trị thiếu máu thiếu sắt.

Chế phẩm

Viên nén, nang, viên phối hợp acid folic.

VIÊN NÉN SẮT FUMARAT VÀ ACID FOLIC

Là viên nén bao phim chứa sắt fumarat và acid folic.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén", mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng sắt fumarat, $C_4H_2FeO_4$, từ 90,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Chú ý: Tiến hành các phép thử trong điều kiện tránh ánh sáng.

Định tính

A. Trong phần Định lượng acid folic, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng thời gian lưu với pic acid folic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Cân một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,8 g sắt fumarat, thêm 25 ml hỗn hợp đồng thể tích *acid hydrochloric (TT)* và nước, đun trên cách thủy 15 min, để nguội và lọc.

VIÊN NÉN SẮT FUMARAT VÀ ACID FOLIC

Giữ cẩn cho phép thử C. Dịch lọc phải cho các phản ứng của sắt (II) (Phụ lục 8.1).

C. Rửa cẩn thu được trong phép thử B bằng *dung dịch acid hydrochloric 0,2 M (TT)*, mỗi lần với 5 ml, cho đến khi dịch lọc không còn màu vàng và sấy khô ở 105 °C. Lắc kỹ khoảng 0,1 g cẩn thu được với 2 ml *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)* và thêm từng giọt *dung dịch kali permanganat 5 % (TT)*. Mất màu permanganat và xuất hiện dung dịch màu nâu.

Sắt (III)

Không được quá 5,0 % trong sắt fumarat.

Cân chính xác một lượng bột viên chứa khoảng 1,5 g sắt fumarat vào bình nón nút mài, thêm hỗn hợp gồm 100 ml nước và 10 ml *acid hydrochloric (TT)*, lắc kỹ và đun nhanh tới sôi. Để sôi 15 s, làm nguội nhanh, thêm 3 g *kali iodid (TT)*, đập nắp, để yên trong chỗ tối 15 min và chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.

Song song tiến hành một mẫu trắng trong cùng điều kiện. Hiệu số giữa hai lần chuẩn độ không được quá 13,4 ml.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT)*.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 60 min.

Cách tiến hành: Sau thời gian quy định, lấy khoảng 150 ml môi trường hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu.

Định lượng acid folic hòa tan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg acid folic chuẩn và chuyển vào bình định mức 500 ml. Thêm khoảng 150 ml *methanol (TT)*, siêu âm 15 min. Thêm khoảng 250 ml môi trường hòa tan và lắc siêu âm thêm 15 min, thêm vừa đủ đến vạch với môi trường hòa tan. Lắc đều, pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được với môi trường hòa tan thành 100,0 ml.

Dung dịch thử: Pha loãng dung dịch thử với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ acid folic khoảng 0,00004 %.

Pha động A: *Acid formic - methanol - nước* (1 : 100 : 900).

Pha động B: *Acid formic - nước - methanol* (1 : 100 : 900).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm) (Cột Zorbax SB-C18 là phù hợp). Duy trì ở nhiệt độ 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 235 nm.

Tốc độ dòng: 0,7 ml/min.

Thể tích tiêm: 300 μl.

Cách tiến hành:

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

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 4	100	0	Đẳng dòng
4 - 9,5	100 → 10	0 → 90	Gradient tuyến tính
9,5 - 9,6	10 → 100	90 → 0	Gradient tuyến tính
9,6 - 20	100	0	Cân bằng cột

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic acid folic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, đã hòa tan dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{19}H_{19}N_7O_6$ của acid folic chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng sắt fumarat hòa tan

Hút chính xác 100 ml môi trường sau khi hòa tan đã lọc, chuẩn độ bằng dung dịch amoni ceri sulfat 0,01 M (CĐ), dùng dung dịch ferroin sulfat (TT) làm chỉ thị.

1 ml dung dịch amoni ceri sulfat 0,01 M (CĐ) tương ứng với 1,699 mg $C_4H_2FeO_4$.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng sắt fumarat, $C_4H_2FeO_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Độ đồng đều hàm lượng acid folic (Phụ lục 11.2)

Chế phẩm có hàm lượng acid folic ít hơn 2 mg phải đáp ứng yêu cầu “Độ đồng đều hàm lượng”.

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp gồm 135 ml methanol (TT) và 800 ml dung dịch chứa natri perclorat (TT) 0,938 % và kali dihydrophosphat (TT) 0,075 %, điều chỉnh pH đến 7,2 bằng dung dịch kali hydroxyd 0,1 M (TT) và pha loãng bằng nước thành 1000 ml.

Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp gồm 800 thể tích dung dịch dikali hydrophosphat (TT) 0,57 % và 135 thể tích methanol (TT).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch acid folic chuẩn 0,0007 % trong dung môi pha mẫu.

Dung dịch thử: Cho một viên thuốc vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml dung môi pha mẫu, lắc siêu âm 5 min, lắc cơ học thêm 15 min nữa, thêm dung môi pha mẫu đến định mức, lắc đều, lọc. Pha loãng dịch lọc nếu cần với dung môi pha mẫu để được dung dịch có nồng độ acid folic tương đương với nồng độ của dung dịch chuẩn.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 277 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic acid folic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, trong mỗi viên dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{19}H_{19}N_7O_6$ của acid folic chuẩn.

Định lượng

Cân 20 viên (đã loại bỏ vỏ bao), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn.

Định lượng sắt fumarat

Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,3 g sắt fumarat, thêm 7,5 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT) vừa đun nóng nhẹ vừa lắc để phân tán và hòa tan. Để nguội, thêm 25 ml nước và chuẩn độ ngay lập tức bằng dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ), dùng dung dịch ferroin sulfat (TT) làm chỉ thị.

1 ml dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ) tương đương với 16,99 mg $C_4H_2FeO_4$.

Định lượng acid folic

Đối với chế phẩm có hàm lượng acid folic ít hơn 2 mg, lấy giá trị trung bình của 10 viên trong phép thử Độ đồng đều hàm lượng acid folic.

Đối với chế phẩm có hàm lượng acid folic bằng hoặc lớn hơn 2 mg, tiến hành định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung môi pha mẫu, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký và cách tiến hành như mô tả trong phần Độ đồng đều hàm lượng acid folic.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương đương với 0,35 mg acid folic vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml dung môi pha mẫu, lắc siêu âm 5 min, lắc cơ học thêm 15 min nữa, thêm dung môi pha mẫu đến định mức, lắc đều và lọc.

Tính hàm lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, trong mỗi viên dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{19}H_{19}N_7O_6$ của acid folic chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Phòng và điều trị thiếu máu.

Hàm lượng thường dùng

200 mg sắt fumarat, 1 mg acid folic.