

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa 0,003 % amoxicilin trihydrat chuẩn và 0,0004 % cefadroxil chuẩn trong pha động A.

Điều kiện sắc ký:

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

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi sau:

Thời gian (min)	Pha động A (tt/tt)	Pha động B (tt/tt)
0 - t _R	92	8
t _R - (t _R + 25)	92 → 0	8 → 100
(t _R + 25) - (t _R + 40)	0	100
(t _R + 40) - (t _R + 41)	0 → 92	100 → 8
(t _R + 41) - (t _R + 55)	92	8

t_R = thời gian lưu của amoxicilin xác định được ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được, độ phân giải giữa pic amoxicilin và pic cefadroxil ít nhất là 2,0. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ pha động A và pha động B.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Diện tích của bất kỳ pic tạp chất nào không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,5 %).

Không được quá 1 pic tạp chất có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1 %).

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

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động A, pha động B, dung dịch phân giải và điều kiện sắc ký thực hiện như mô tả ở mục Tạp chất liên quan.

Pha động: Pha động A - pha động B (92 : 8).

Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 60 mg amoxicilin vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml pha động A, lắc 15 min sau đó lắc siêu âm trong 1 min, thêm pha động A vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 0,070 % amoxicilin trihydrat chuẩn trong pha động A.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch thu được, độ phân giải giữa pic amoxicilin và pic cefadroxil ít nhất là 2,0. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ pha động A và pha động B.

Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng amoxicilin, C₁₆H₁₉N₃O₅S, trong viên dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng C₁₆H₁₉N₃O₅S trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản

Đề ở nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg, tính theo amoxicilin khan.

BỘT PHA TIÊM AMPICILIN

Bột pha tiêm ampicilin là bột kết tinh vô khuẩn của ampicilin natri đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với nước vô khuẩn để tiêm ngay trước khi dùng.

Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ampicilin, C₁₆H₁₉N₃O₄S, phải đạt từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A và C.

Nhóm II: B, C và D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của ampicilin natri. Nếu phổ không phù hợp thì thực hiện như sau: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 0,25 g ampicilin trong 5 ml nước, thêm 0,5 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT), trộn đều và để yên 10 min trong nước lạnh. Lọc qua phễu thủy tinh xốp số 3, rửa cặn với 2 ml đến 3 ml hỗn hợp 9 thể tích acetone (TT) và 1 thể tích nước, làm khô cặn ở 60 °C trong 30 min và đo phổ hồng ngoại. Phổ hồng ngoại của cặn phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của ampicilin trihydrat.

B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng thời gian lưu với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

C. Chế phẩm phải có phản ứng đặc trưng của natri (Phụ lục 8.1).

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

Bản mỏng: Silica gel F₂₅₄ silan hóa (Merck silanised silica gel 60F₂₅₄ RP-18 là phù hợp).

Dung môi khai triển: Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng acid acetic băng (10 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 25 mg ampicilin natri trong 10 ml dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch chứa 0,25 % ampicilin trihydrat chuẩn trong dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa 0,25 % ampicilin trihydrat chuẩn và 0,25 % amoxicilin trihydrat chuẩn trong dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 2 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, đặt bản mỏng vào bình có hơi iod đến khi xuất hiện các vết, quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính của dung dịch thử và vết chính của dung dịch đối chiếu (1) phải giống nhau về vị trí, màu sắc và hình dạng. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách biệt nhau rõ ràng.

Giới hạn acid - kiềm

Dung dịch chế phẩm 10,0 % trong nước không có carbon dioxide (TT) có pH từ 8,0 đến 10,0. Đo trong vòng 10 min sau khi pha dung dịch (Phụ lục 6.2).

Nước

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,3 g bột thuốc.

Nội độc tố vi khuẩn

Hòa tan một lượng chế phẩm trong nước BET (TT) để thu được dung dịch có nồng độ ampicilin 9,5 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 1,5 EU/ml (Phụ lục 13.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Pha loãng hỗn hợp gồm 1 ml dung dịch acid acetic 10 % (TT), 100 ml dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT), 100 ml acetonitril (TT) thành vừa đủ 2000 ml bằng nước.

Pha động B: Pha loãng hỗn hợp gồm 1 ml dung dịch acid acetic 10 % (TT), 100 ml dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT), 800 ml acetonitril (TT) thành vừa đủ 2000 ml bằng nước.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 0,3 g ampicilin vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng 80 ml pha động A, lắc siêu âm 15 min, rồi thêm pha động A vừa đủ thể tích, lắc đều, lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (2): Thêm 1 ml nước vào 0,2 g ampicilin chuẩn. Đun nóng dung dịch ở 60 °C trong 1 h

và pha loãng 0,5 ml dung dịch này thành 50 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (3): Dung dịch chứa 0,025 % ampicilin chuẩn và 0,002 % cefradin chuẩn trong pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Nucleosil C18 là thích hợp).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

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 - t _R	85	15
t _R - (t _R + 30)	85 → 0	15 → 100
(t _R + 30) - (t _R + 45)	0	100
(t _R + 45) - (t _R + 46)	0 → 85	100 → 15
(t _R + 46) - (t _R + 60)	85	15

t_R = thời gian lưu của ampicilin xác định được ở sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1).

Cân bằng cột với pha động là hỗn hợp pha động A - pha động B (85 : 15). Tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động như thời điểm bắt đầu chương trình dung môi với dung dịch đối chiếu (3). Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi ở trên với dung dịch đối chiếu (1) và (2), dung dịch thử và mẫu trắng là pha động A.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) xuất hiện pic ampicilin và pic ampicilin dimer có thời gian lưu tương đối so với pic ampicilin khoảng 2,8. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic ampicilin và pic cefradin không nhỏ hơn 3,0; có thể điều chỉnh tỷ lệ thành phần pha động để đạt yêu cầu trên.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Diện tích của pic ứng với ampicilin dimer không được lớn hơn 4,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (4,5 %).

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

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động A, pha động B và điều kiện sắc ký thực hiện như mô tả ở mục Tạp chất liên quan.

Pha động: Pha động A - pha động B (85 : 15).

Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ, tính khối lượng trung bình của thuốc trong một đơn vị chế phẩm, trộn đều. Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 60 mg ampicilin vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng

80 ml pha động A, lắc để hòa tan rồi thêm pha động A vừa đủ thể tích, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 0,006 % ampicilin chuẩn trong pha động A.

Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa 0,025 % ampicilin chuẩn và 0,002 % cefradin chuẩn trong pha động A.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic ampicilin và pic cefradin ít nhất là 3,0; có thể điều chỉnh tỷ lệ thành phần pha động để đạt yêu cầu trên.

Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong ampicilin chuẩn.

Bảo quản

Ở nhiệt độ không quá 25 °C.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng

500 mg, 1000 mg.

NANG AMPICILIN

Là nang cứng có chứa ampicilin khan hoặc ampicilin trihydrat. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lấy một lượng bột thuốc đã nghiền mịn tương ứng khoảng 10 mg ampicilin, thêm 10 ml nước, lắc kỹ, lọc. Thêm vào dịch lọc 2 ml thuốc thử Fehling (TT), xuất hiện ngay màu tím đỏ.

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

Bản mỏng: Silica gel silan hóa (Merck silansied silica gel 60F₂₅₄ RP-18 là phù hợp).

Dung môi khai triển: Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng acid acetic băng (10 : 90).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng 125 mg ampicilin với 50 ml dung dịch natri hydro carbonat 4,2 % (TT), lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch chứa 0,25 % ampicilin trihydrat chuẩn trong dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa 0,25 % ampicilin trihydrat chuẩn và 0,25 % amoxicilin trihydrat chuẩn trong dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 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, đặt bản mỏng vào bình có hơi iod đến khi xuất hiện các vết, quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ thu được, vết chính của dung dịch thử và vết chính của dung dịch đối chiếu (1) phải giống nhau về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách biệt nhau rõ ràng.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Thời gian: 60 min.

Cách tiến hành:

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch chuẩn và điều kiện sắc ký thực hiện như trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác một thể tích dịch lọc, pha trong pha động A để có nồng độ ampicilin chính xác khoảng 0,006 %.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Mất khối lượng do làm khô

Cân chính xác khoảng 500 mg bột thuốc, sấy trong chân không dưới áp suất 5 mmHg ở 60 °C trong 3 h.

Lượng mất đi phải từ 10,0 % đến 15,0 % khi chế phẩm chứa ampicilin trihydrat.

Lượng mất đi không được lớn hơn 4 % khi chế phẩm chứa ampicilin khan.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Pha loãng hỗn hợp gồm 1 ml dung dịch acid acetic 10 % (TT), 100 ml dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT), 100 ml acetonitril (TT) thành vừa đủ 2000 ml bằng nước.

Pha động B: Pha loãng hỗn hợp gồm 1 ml dung dịch acid acetic 10 % (TT), 100 ml dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT), 800 ml acetonitril (TT) thành vừa đủ 2000 ml bằng nước.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 0,3 g ampicilin, cho vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng 80 ml pha động A, lắc siêu âm 15 min, rồi thêm pha động A vừa đủ thể tích, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.