

Hòa tan một lượng chế phẩm trong nước BET (TT) để thu được dung dịch có nồng độ amoxicilin 10 mg/ml (dung dịch A). Giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 2,5 EU/ml.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp 5 thể tích methanol (TT) và 95 thể tích dung dịch natri dihydrophosphat monohydrat 0,78 % đã được điều chỉnh đến pH 4,4 bằng acid phosphoric (TT) hoặc bằng dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn và clavulanat lithi chuẩn (hoặc clavulanat kali chuẩn) trong nước có nồng độ tương ứng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, là 0,5 mg/ml và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, là 0,125 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ, tính khối lượng trung bình và trộn đều. Cân chính xác một lượng chế phẩm, tương ứng với khoảng 50 mg amoxicilin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml nước, lắc cho tan, pha loãng bằng nước đến vạch, lắc đều.

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 220 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Thời gian lưu tương đối của acid clavulanic khoảng 0,5 và amoxicilin là 1,0. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic amoxicilin và acid clavulanic không nhỏ hơn 3,5; hệ số đối xứng của pic amoxicilin và acid clavulanic không lớn hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic amoxicilin và acid clavulanic không lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ của amoxicilin trihydrat chuẩn và $C_8H_9NO_5$ của clavulanat lithi chuẩn (hoặc clavulanat kali chuẩn).

Bảo quản

Bảo quản trong bao bì kín, nơi khô, mát và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

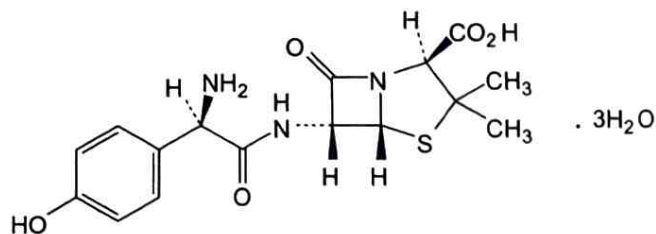
Kháng sinh nhóm beta-lactam + men kháng beta-lactamase.

Hàm lượng thường dùng

0,6 g (0,5 g amoxicilin và 0,1 g acid clavulanic).

1,2 g (1,0 g amoxicilin và 0,2 g acid clavulanic).

AMOXICILIN TRIHYDRAT



$C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3H_2O$

P.t.l: 419,4

Amoxicilin trihydrat là acid (2S,5R,6R)-6-[(2R)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic trihydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.

Khó tan trong nước và rất khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong dầu béo. Tan trong các dung dịch acid loãng và dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

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

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng theo “Định tính các penicilin” (Phụ lục 8.2), dùng pha động B.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng B trong phép thử “Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin” (Phụ lục 8.3).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan riêng biệt 1,0 g chế phẩm trong 10 ml dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT) và 1,0 g chế phẩm trong 10 ml dung dịch amoniac 2 M (TT). Quan sát ngay sau khi hòa tan, cả hai dung dịch trên không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2).

pH

Dung dịch S: Lắc siêu âm hoặc đun nóng nhẹ để hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 50,0 ml nước không có carbon dioxyd (TT).

pH của dung dịch S phải từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +290° đến +315°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm pH 5,0: Thêm dung dịch natri hydroxyd

loãng (TT) vào 250 ml dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT) đến pH 5,0 và pha loãng thành 1000 ml bằng nước.

Pha động A: Acetonitril - dung dịch đệm pH 5,0 (1 : 99).

Pha động B: Acetonitril - dung dịch đệm pH 5,0 (20 : 80).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dùng ngay sau khi pha.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30,0 mg amoxicilin trihydrat chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4,0 mg cefadroxil chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Hút 5,0 ml dung dịch thu được và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thêm pha động A vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động A.

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 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	92	8
t _R - (t _R + 25)	92 → 0	8 → 100
(t _R + 25) - (t _R + 40)	0	100
(t _R + 40) - (t _R + 55)	92	8

t_R = thời gian lưu của amoxicilin xác định được ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Nếu điều chỉnh tỷ lệ pha động để đạt được độ phân giải yêu cầu, việc điều chỉnh này phải được thực hiện ngay tại thời điểm 0 của chương trình dung môi và ở phần Định lượng.

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 (2) và (3). Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi ở trên với dung dịch thử (2) và mẫu trắng là pha động A.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của amoxicilin với pic của cefadroxil ít nhất là 2,0 (điều chỉnh tỷ lệ pha động A : B nếu cần).

Giới hạn:

Tạp đơn: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (2S,5R,6R)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6-aminopenicilanic).

Tạp chất B: Acid (2S,5R,6R)-6-[[[(2S)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0] heptan-2-carboxylic (L-amoxicilin).

Tạp chất C: Acid (4S)-2-[5-(4-hydroxyphenyl)-3,6-dioxopiperazin-2-yl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (amoxicilin diketopiperazin).

Tạp chất D: Acid (4S)-2-[[[(2R)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl]amino]carboxymethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniciloic của amoxicilin).

Tạp chất E: Acid (2R,4S)-2-[[[(2R)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniloic của amoxicilin).

Tạp chất F: 3-(4-hydroxyphenyl)pyrazin-2-ol.

Tạp chất G: Acid (2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-[(2R)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl]amino]-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0] heptan-2-carboxylic (D-(4-hydroxyphenyl)glycylamoxicilin).

Tạp chất H: Acid (2R)-2-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-2-(4-hydroxyphenyl)acetic.

Tạp chất I: Acid (2R)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetic.

Tạp chất J: Các co-oligomer của amoxicilin và acid peniciloic của amoxicilin.

Tạp chất K: Các oligomer của acid peniciloic của amoxicilin.

Tạp chất L: Acid (2S,5R,6R)-6-[[[(2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-[(2R)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (6-APA amoxicilin amid).

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 1 hoặc 2).

Nước

11,5 % đến 14,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,100 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 1,0 % (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 như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Pha động: Tỷ lệ ban đầu của pha động A và B. Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

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

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic amoxicilin trihydrat thu được từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch đối chiếu (1) không được lớn hơn 1,0 %.

Tính hàm lượng phần trăm của C₁₆H₁₉N₃O₅S trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của C₁₆H₁₉N₃O₅S trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Chế phẩm

Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch.

BỘT PHA HỖN DỊCH AMOXICILIN

Là thuốc bột chứa amoxicilin trihydrat.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc bột” (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột thuốc khô tơi, không bị ẩm, không vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Aceton - nước - toluen - acid acetic băng (65 : 10 : 10 : 2,5)

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc tương ứng 100 mg amoxicilin trong 20 ml hỗn hợp gồm aceton - dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (4 : 1), lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong hỗn hợp gồm aceton - dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (4 : 1) để được dung dịch chứa 0,5 % amoxicilin.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt 2 μ l mỗi 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 ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch ninhydrin 0,3 % trong ethanol (TT), rồi sấy ở 90 °C trong 15 min. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải tương ứng về màu sắc và giá trị R_f .

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

pH

pH của hỗn dịch tạo thành được chuẩn bị như hướng dẫn trên nhãn phải từ 5,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch A: Hòa tan 13,6 g kali dihydrophosphat (TT) trong 2000 ml nước, điều chỉnh tới pH $5,0 \pm 0,1$ với dung dịch kali hydroxyd 45 %.

Pha động: Dung dịch A - acetonitril (96 : 4). Điều chỉnh tỷ lệ acetonitril để đạt điều kiện sắc ký yêu cầu (nếu cần).

Dung dịch chuẩn: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong dung dịch A để có nồng độ amoxicilin chính xác khoảng 1,2 mg/ml. Lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,45 μ m (chỉ dùng trong vòng 6 h).

Dung dịch thử: Lấy bột thuốc sau khi xác định độ đồng đều khối lượng, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 120 mg amoxicilin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung dịch A, lắc để hòa tan và thêm dung dịch A đến định mức, lắc đều, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 μ m đến 10 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic amoxicilin không lớn hơn 2,5 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %.

Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, trong chế phẩm từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản

Để 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.

NANG AMOXICILIN

Là nang cứng có chứa amoxicilin 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 amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Aceton - nước - toluen - acid acetic băng (65 : 10 : 10 : 2,5).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng 100 mg amoxicilin trong 20 ml hỗn hợp gồm aceton - dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (4 : 1), lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong hỗn hợp gồm aceton - dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (4 : 1) để được dung dịch chứa 0,5 % amoxicilin.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt 2 μ l mỗi 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 ở nhiệt độ phòng.