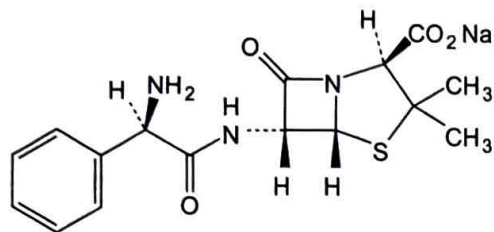


AMPICILIN NATRI



$C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$

P.t.l: 371,4

Ampicilin natri là muối natri của acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic, phải chứa từ 91,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$, tính theo chế phẩm khan.

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

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm.

Đễ tan trong nước, hơi tan trong acetone. Thực tế không tan trong dầu béo và parafin lỏng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 5 ml nước, thêm 0,5 ml acid acetic loãng (TT), khuấy đều và để yên 10 min trong nước đá. Lọc tinh thể qua phễu lọc thủy tinh xốp (số độ xốp 40) sử dụng hút chân không, rửa tủa bằng 2 ml đến 3 ml hỗn hợp nước - acetone (1 : 9), sấy tủa ở nhiệt độ 60 °C trong 30 min. Phổ hấp thụ hồng ngoại của tủa thu được (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ampicilin trihydrat chuẩn.

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng theo định tính các penicilin (Phụ lục 8.2).

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

D. Chế phẩm phải cho định tính (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Lấy 1,0 g chế phẩm vào 1 bình nón, thêm 10 ml dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT) từ từ và khuấy liên tục. Hòa tan 1,0 g chế phẩm khác trong nước và pha loãng thành 10 ml bằng nước. Quan sát ngay sau khi hòa tan. Cả hai dung dịch trên không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm trong nước đo ở bước sóng 430 nm không được lớn hơn 0,15.

pH

Từ 8,0 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 20 ml bằng cùng dung môi. Sau khi hòa tan 10 min tiến hành đo pH.

Góc quay cực riêng

Từ +258° đến +287°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 62,5 mg chế phẩm trong dung dịch kali hydrophthalat 0,4 % và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng dung môi và tiến hành đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Trộn đều 0,5 ml acid acetic loãng (TT), 50 ml dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT) và 50 ml acetonitril (TT), thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Pha động B: Trộn đều 0,5 ml acid acetic loãng (TT), 50 ml dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT) và 400 ml acetonitril (TT), thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 31,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 31,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 27,0 mg ampicilin khan chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,0 mg cefradin chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Trộn đều 5,0 ml dung dịch thu được và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1).

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

Dung dịch đối chiếu (4): Lấy 0,20 g chế phẩm, thêm 1,0 ml nước, làm nóng ở 60 °C trong 1 h. Pha loãng 0,5 ml dung dịch thu được thành 50,0 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	85	15
$t_R - (t_R + 30)$	85 → 0	15 → 100
$(t_R + 30) - (t_R + 45)$	0	100
$(t_R + 45) - (t_R + 60)$	85	15

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

Nếu phải điều chỉnh các thành phần của pha động để đạt độ phân giải như yêu cầu thì các thành phần được điều chỉnh sẽ được áp dụng tại thời điểm ban đầu và trong định lượng. Tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động như thời điểm bắt đầu của chương trình dung môi với dung dịch đối chiếu (2) và (3). Tiến hành sắc ký theo chương

trình dung môi với dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (4) và mẫu trắng là pha động A.

Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của ampicilin và ampicilin dimer.

Thời gian lưu tương đối của ampicilin dimer so với ampicilin khoảng 2,8.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của ampicilin với pic của cefradin ít nhất là 3,0. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ pha động A : B.

Giới hạn:

Ampicilin dimer: Diện tích pic ampicilin dimer không được lớn hơn 4,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (4,5 %).

Các tạp đơn khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (2 %).

Ghi chú:

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

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

Tạp chất C: Acid (4*S*)-2-(3,6-dioxo-5-phenylpiperazin-2-yl)-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (diketopiperazin của ampicilin).

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

Tạp chất E: Acid (2*S*)-2-[[[(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-yl]carbonyl]amino]-2-phenylacetic (ampiciliny-D-phenylglycin).

Tạp chất F: Acid (2*R*,4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniloic của ampicilin).

Tạp chất G: (3*R*,6*R*)-3,6-Diphenylpiperazin-2,5-dion.

Tạp chất H: 3-Phenylpyrazin-2-ol.

Tạp chất I: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[[(2*R*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (D-phenylglycylampicilin).

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

Tạp chất K: Acid (2*R*)-2-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-2-phenylacetic.

Tạp chất L: Acid (2*R*)-2-amino-2-phenylacetic (D-phenylglycin).

Tạp chất M: Các co-oligomer của ampicilin và acid peniciloic của ampicilin.

Tạp chất N: Các oligomer của acid peniciloic của ampicilin.

***N,N*-Dimethylanilin**

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

Acid 2-ethylhexanoic

Không được quá 0,8 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Methylen clorid

Không được quá 0,2 % (kl/kl).

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 1,0 ml ethylen clorid (TT) trong nước và pha loãng thành 500,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 1,0 ml methylen clorid (TT) trong nước và pha loãng thành 500,0 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml bằng nước.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (1,5 m × 4 mm) được nhồi diatomit dùng cho sắc ký khí (TT) đã được tẩm 10 % (kl/kl) polyethylen glycol 1000 (TT).

Khí mang là nitrogen dùng cho sắc ký khí (TT), lưu lượng 40 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ: Cột ở 60 °C, buồng tiêm ở 100 °C, detector ở 150 °C.

Lấy tỉ trọng của methylen clorid ở 20 °C là 1,325 g/ml để tính hàm lượng.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu Pb (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,15 EU/mg (Phụ lục 13.2).

Nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không có biện pháp hữu hiệu để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải thử chỉ tiêu này.

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 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 ampicilin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) trong 6 lần tiêm không được lớn hơn 1,0. Tính hàm lượng của C₁₆H₁₉N₃O₄S 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 C₁₆H₁₉N₃O₄S trong ampicilin khan chuẩn.

Hàm lượng phần trăm của ampicilin natri bằng hàm lượng phần trăm của ampicilin ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) nhân với 1,063.

Bảo quản

Trong bao bì kín. Nếu chế phẩm vô trùng thì bảo quản trong bao bì vô trùng, kín.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Chế phẩm

Bột pha tiêm.

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, thuốc cấy” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

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

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, tan trong nước.

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 aceton (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, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

C. Chế phẩm phải có phản ứng định tính (A) của ion 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 60 F₂₅₄ 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: 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. 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 dioxyl (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 tinh C (5 µm) (cột Nucleosil C18 là thích hợp).