

INSTITUTO NACIONAL DE MEDICAMENTOS (INAME)

FARMACOPEA ARGENTINA

AV. CASEROS 2161

1264 BUENOS AIRES

FAX 5411-4340-0853

REPUBLICA ARGENTINA

AMPICILINA

Sustancia de Referencia para Ensayos Físico-Químicos

(Control N° 110005)

Ácido [2S-[2 α ,5 α ,6 β (S*)]]-6-[(aminofenilacetil)amino]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo
[3.2.0]-heptano-2-carboxílico

C₁₆H₁₉N₃O₄S

P. Mol.: 349,4

Descripción: polvo blanco cristalino.

Espectro de absorción infrarrojo:

Sustancia tal cual.

Disco de KBr.

Concentración: aproximadamente 1 mg de sustancia en 100 mg de KBr.

Equipo: espectrofotómetro FT-IR Perkin Elmer, modelo Spectrum 1000.

(Ver espectro adjunto).

Contenido de agua: 0,51 % (Determinaciones efectuadas: 8; desviación estándar: 0,04 %).

Determinado por coulombimetría.

Equipo: coulombímetro Metrohm, modelo 652 KF.

pH: 4,72

Determinado en solución al 1 %, P/V, en agua libre de dióxido de carbono.

Espectro de absorción ultravioleta:

Precauciones: no exponer la sustancia ni sus soluciones a la luz.

Concentración de la solución: 0,1 %, P/V, en el disolvente.

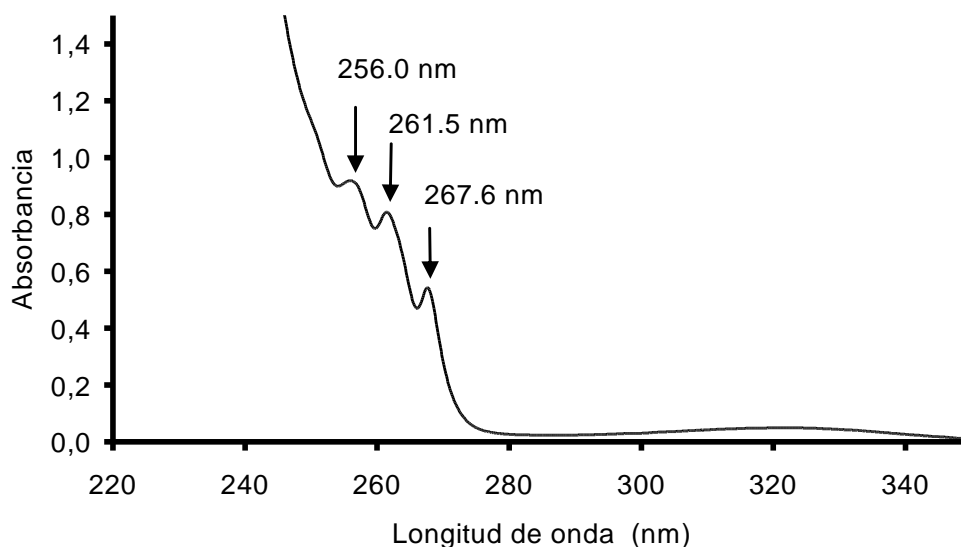
Disolvente: mezclar 10 ml de fosfato monobásico de potasio 1 M y 1 ml de ácido acético 1 N, diluir con agua a 1 litro y homogeneizar.

Cubetas de 1 cm de paso óptico.

Slit: 1.

Barrido U.V. entre 220 y 340 nm, efectuado con velocidad lenta.

Equipo: espectrofotómetro Shimadzu, modelo U.V. 2101 PC.



Absorbancia:

Concentración de la solución, disolvente, cubetas, slit, equipo y precauciones ídem espectro de absorción ultravioleta.

λ : 256,0 nm

$A = 0,941$ (Determinaciones efectuadas: 5; desviación estándar: 0,004).

λ : 261,5 nm

$A = 0,831$ (Determinaciones efectuadas: 5; desviación estándar: 0,004).

λ : 267,6 nm

$A = 0,559$ (Determinaciones efectuadas: 5; desviación estándar: 0,003).

Poder rotatorio específico: $[\alpha]_{25}^{\circ}\text{C}$, $D = + 298,7^{\circ}$ (Determinaciones efectuadas: 5; coeficiente de variación: 1,52 %).

Concentración de la solución: 0,25 %, P/V, en agua.

Equipo: polarímetro Rudolph Research, modelo Autopol III.

Límite de dimetilanilina:

Equipo: cromatógrafo gaseoso Shimadzu, modelo GC-17 A.

Detector: Shimadzu GC-Masa, modelo QP 5000.

Columna: capilar DB5 de 30 m de largo y 0,32 mm de diámetro interno, con un diámetro de partícula de 0,25 μm .

Fase estacionaria: 95 % de dimetilpolisiloxano y 5 % de fenilo.

Gas transportador: helio.

Flujo intracolumnar: 1,5 ml/min.

Relación de split: 5:1.

Temperaturas:

Inyector: 270 $^{\circ}\text{C}$.

Detector: 300 $^{\circ}\text{C}$.

Horno: inicial a 70 $^{\circ}\text{C}$, incremento a 30 $^{\circ}\text{C}$ /minuto hasta 200 $^{\circ}\text{C}$.

Preparación del estándar interno: se pesan exactamente alrededor de 2,5 mg de bifenilo, se disuelven con ciclohexano y se llevan a 50 ml con el mismo solvente.

Preparación de la solución estándar de dimetilanilina: se pesan exactamente alrededor de 50,0 mg de N,N-dimetilanilina y se transfieren a un matraz aforado de 50 ml. Se agregan 25 ml de ácido clorhídrico 1 N y se agita por rotación hasta disolver. Se lleva a volumen con agua y se mezcla. Se transfieren 5,0 ml de la solución resultante a un matraz aforado de 250 ml, se lleva a volumen con agua y se mezcla. 1,0 ml de esta solución se coloca en un tubo de centrifuga, se agregan 5,0 ml de hidróxido de sodio 1 N y 1,0 ml de solución de estándar interno, se agita vigorosamente durante 1 minuto y se centrifuga. Se emplea la solución sobrenadante (0,002 %).

Preparación de la solución muestra: se pesan exactamente alrededor de 1,0 g de ampicilina, se transfieren a un tubo de centrifuga, se agregan 5,0 ml de hidróxido de sodio 1 N y se agita hasta disolución. Se agrega 1,0 ml de solución de estándar interno, se agita vigorosamente durante 1 minuto y se centrifuga. Se emplea la solución sobrenadante.

Volumen de inyección de la solución muestra y de la solución estándar: 1 µl.

Resultado: el contenido de dimetilanilina es menor a 0,002 %.

Estimación de impurezas presentes por cromatografía líquida de alta eficacia:

Precauciones: no exponer la sustancia ni sus soluciones a la luz.

Equipo: cromatógrafo líquido de alta eficacia Shimadzu, modelo LC10A, con procesador de datos Hewlett Packard, HP3365 Serie II, Chemstation.

Columna: Phenomenex Maxsil 5 C18; longitud: 25 cm; diámetro interno: 4,6 mm; diámetro de partícula: 5 µm.

Longitud de onda: 254 nm.

Fase móvil: agua – acetonitrilo – fosfato monobásico de potasio 1M – ácido acético 1 N (941:48:10:1).

Flujo: 2,0 ml/minuto.

Disolvente de la muestra: mezclar 10 ml de fosfato monobásico de potasio 1 M y 1 ml de ácido acético 1 N, diluir con agua a 1 litro y homogeneizar.

Muestra: Ampicilina.

Concentración de la muestra: 7,0 mg/ml.

Volumen inyectado: 50 µl.

Resultado: se detecta la presencia de catorce impurezas.

Tiempo de retención aproximado (minutos)	% de área respecto del área total
2,3	0,006
2,6	0,038
2,7	0,001
3,8	0,011
4,6	0,003
4,8	0,095
5,4	0,010
5,8	0,455
11,0	pico principal
14,0	0,013
20,0	0,040
22,0	0,026

32,4	0,021
34,0	0,036
37,4	0,136

Impurezas totales estimadas: 0,89 %.

Valoración: por cromatografía líquida de alta eficacia: 100,0 % (expresada sobre la sustancia anhidra; determinaciones efectuadas: 12; coeficiente de variación: 0,7 %).

Equipo, columna, longitud de onda, disolvente, ídem "Estimación de impurezas presentes por cromatografía líquida de alta eficacia".

Flujo: 1,8 ml/min.

Fase móvil: agua – acetonitrilo – fosfato monobásico de potasio 1M – ácido acético 1 N (893:96:10:1).

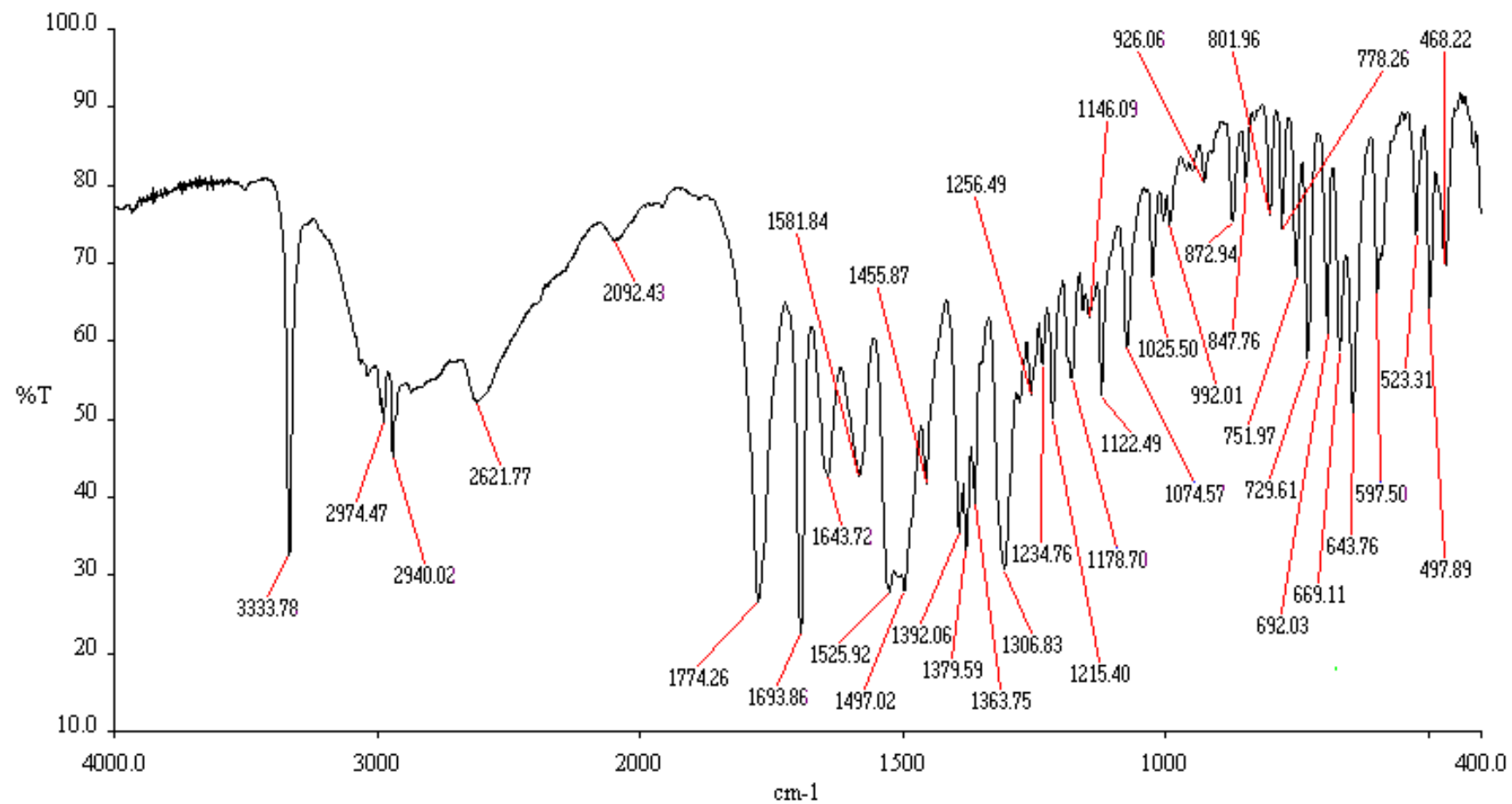
Estándar: Ampicilina, USP Reference Standard, lote KOD139.

Concentración de las soluciones de muestra y de estándar: 1 mg/ml.

Volumen inyectado: 20 µl.

Precauciones: durante todo el procedimiento, no exponer la sustancia ni sus soluciones a la luz.

Conservación: esta Sustancia de Referencia debe conservarse al abrigo de la luz, a $6\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y en ambiente de baja humedad.



Ampicilina – Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina