

دراسة استقصائية تحليلية لإمكانية استخدام مقياس اليود كطريقة معايرة معبرة عن ثباتية المعلق الفموي للأمبيسيلين ثلاثي الهيدرات وفق دستور الأدوية الأمريكي.

الدكتور محمد هارون*
خالد شمرايخ**

(تاريخ الإيداع 7 / 9 / 2011. قُبل للنشر في 20 / 12 / 2011)

□ ملخص □

يملك الأمبيسيلين قيمة علاجية ومأمونية عالية. سيما لما يتمتع به من تاريخ طويل من الاستخدام في الرعاية الصحية، ما يقارب النصف قرن. وفي دراستنا لثباتية معلق الأمبيسيلين الفموي مع الزمن باستخدام مقياس اليود كطريقة معايرة دستورية حصلنا على نتيجة غير متوقعة، إذ إن تركيز الأمبيسيلين كان يتناقص مع الزمن بشكل منطقي، ومن ثم ظهرت زيادة مفاجئة في اليود المستهلك. ولتفسير ذلك قمنا بإجراء بعض اختبارات كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC على عينات من الأمبيسيلين العياري والمعلقات المدروسة. وقمنا بتحضير محاليل مائية للأمبيسيلين العياري بتركيز 1mg/ml ، ومتابعة تخربها بمقياس اليود بشكل مستمر، بدرجة حرارة المخبر، بالتوازي مع متابعة التخرب لنفس المحاليل بمقياس الطيف الضوئي، وبالمقارنة كانت النتائج متطابقة إلى حد كبير دون أي زيادة في التركيز. وبالتالي وجدنا أن سبب التداخل في تفاعل معايرة الأمبيسيلين بمقياس اليود في المعلقات المدروسة هي السواغات، وهذا ما يجعل طريقة مقياس اليود كطريقة دستورية، مناسبة لتحديد محتوى المعلقات المدروسة من الأمبيسيلين حال فتحها وإضافة الماء، ولا يمكن اعتبارها طريقة معايرة معبرة عن الثباتية من أجل معلقات الأمبيسيلين مع الزمن .

الكلمات المفتاحية: أمبيسيلين ثلاثي الهيدرات، الثباتية، مقياس اليود، مقياس الطيف الضوئي.

*مدرس- قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

**طالب دراسات عليا (ماجستير)- قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية- كلية الصيدلة- جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

Analytical Investigation of Iodometry As Stability- Indicating Assay for Ampicillin Trihydrate Oral Suspension According to U.S. Pharmacopeia (USP)

Dr. Mohammad Haroon*
Khaled Shmareekh**

(Received 7 / 9 / 2011. Accepted 20 / 12 / 2011)

□ ABSTRACT □

Ampicillin possesses therapeutic value and high safety, due to its long history of use in healthcare, about demi-century. In this research, and by using Iodometry for Ampicillin trihydrate oral suspensions as a formal method, the concentration of ampicillin was decreasing as expected, but then consumed Iodine solution was suddenly increased. For interpretation, we carried out TLC tests for samples of ampicillin trihydrate suspensions and standard ampicillin trihydrate. Aqueous ampicillin trihydrate solutions were prepared with 1mg/ml concentration, their degradation were monitored with Iodometry, within laboratory temperature. At the same time, the solutions degradation were monitored by Spectrophotometry, and the results of two methods were very good similar, and the increasing didn't appear. Therefore, interference was found because of excipients. Thus, Iodometry is fit to determine the content test of ampicillin, as a pharmacopeial method. But, it isn't considered as Stability-indicating assay.

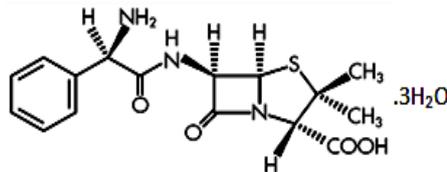
Keywords: Ampicillin Trihydrate, Stability, Iodometry, Spectrophotometer.

* Assistant professor, Department of Medicinal Chemistry & Drug Control, Faculty of Pharmacy, University of Tishreen, Lattakia, Syria.

** Postgraduate Student, Department of Medicinal Chemistry & Drug Control, Faculty of Pharmacy, University of Tishreen, Lattakia, Syria.

مقدمة:

يعرف الأمبيسيلين كيميائياً $(2S,5R,6R)-6-([(2R)-2\text{-amino-2-phenylacetyl}]\text{amino})-3,3\text{-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo}[3.2.0]\text{heptan-2-carboxylic acid trihydrate}$. وله الصيغة الجزيئية $C_{16}H_{19}N_3O_4S \cdot 3H_2O$ والوزن الجزيئي 349.409 غ/مول. وهو مضاد حيوي Antibiotic فعال نصف صناعي Semi-synthesis ينتمي لمجموعة الأمينوبينسيلين بيتا لاكتام ذي ثباتية قصيرة الأجل في المحاليل المائية^[1]. ويتمتع بطيف واسع Broad Spectrum فهو فعال ضد الجراثيم موجبة الغرام، وبشكل أكبر ضد الجراثيم سالبة الغرام و إبتانات المكورات المعوية.



Ampicillin trihydrate

يعد الطريق الفموي Oral Route من أكثر الطرق استخداماً لإعطاء الدواء كونه الأكثر ملائمة وسهولة. والشراب المعلق Suspension هو الشكل الأكثر شيوعاً من بين الأشكال الصيدلانية Dosage Forms المعطاة بهذا الطريق بشكل خاص بالنسبة للأطفال. وعلى الرغم أن المعوقات يجب أن تخضع للانحلال Dissolution فإنها تبقى مفيدة أكثر من الأشكال الصيدلانية الصلبة إذ تتجاوز مرحلة التفتت Disintegration وتكون جاهزة للانحلال في الوسط المعدي المعوي. وحينما يعطى الأمبيسيلين فموياً فإنه يمتص من القناة الهضمية ويصل إلى التركيز البلازمي الأعظمي في غضون ساعتين تقريباً^[2].

ومنذ ظهور الأمبيسيلين فقد تم تطوير طرق مختلفة لتحليله كمادة أولية و في أشكاله الصيدلانية المختلفة نظراً لأهميته العلاجية و فعاليته المستمرة^[3]. وكانت أولى هذه الطرق لتحديد تركيزه كمادة أولية هي طريقة مقياس اليود على يد Alicino عام 1961^[4]، كما طبق كلاً من Paolo Ventura and Benito Casu مطيافية الأشعة تحت الحمراء لتحديد تركيز البنسيلينات في محاليلها بوجود أكسيد الدوتيريوم أو سلفوكسيد ثنائي الميثيل، بفحص منطقة عصابة الكربونيل عند (1760 cm^{-1}) و قياس امتصاصيتها، إذ تكون وصفية في الطيف الناتج لكل مضاد حيوي على حدة، وقارنا النتائج التي حصلنا عليها بطريقة مقياس اليود فكانت متطابقة ومفضلة من حيث النوعية، وأكدنا إمكانية استخدامها لتقييم ثباتية البنسيلينات في محاليلها المائية^[5]. بينما طور العديد من الباحثين طرقاً تحليلية معتمدة على تقنية المطيافية الضوئية لتحديد تركيز الأمبيسيلين كمادة أولية وفي أشكاله الصيدلانية المختلفة، بناءً على تشكل معقدات لونية، وقياس الامتصاصية عند الطول الموجي الأعظمي للمعقد الناتج، كما في بحث أعهه J. G. Smith, *et al.* باستخدام احد أملاح النحاس، لتحديد تركيز الأمبيسيلين كمادة أولية و قد كانت النتائج جيدة^[6]، وفي عام 1994 طور Abuzuhri A. Z., *et al.* طريقة ضوئية بسيطة، تعتمد على تشكيل معقد رباعي باستخدام 10,1- فينانثرولين وشاردة النحاس الثنائية، لتحديد تركيز الأمبيسيلين كمادة أولية ومقايسته في أشكاله الصيدلانية المختلفة، وقد حققت التجارب نجاحاً من خلال مقارنة الطريقة بطرق تحليلية معتمدة دستورياً^[7]. وبحلول عام 1997 كان Li Huakan, *et al.* قد توصل إلى طريقة ضوئية تعتمد على تفاعل منتقل الشحنة يؤدي إلى تشكل المعقد بارابنزوكينون أمبيسيلين، والذي من خلال قياس الامتصاصية له عند طول موجة 472 nm (الامتصاص الأعظمي) يمكن قياس تركيز الأمبيسيلين، وقد تمكنوا من تطبيق الطريقة على كبسولات ومعلقات حاوية على الأمبيسيلين، فكانت

النتائج مرضية بمعايير مصدوقية الطريقة التحليلية^[8]. وقد استخدم كلاً من Omar Shakoor and Robert B. Taylor. تقنية الكروماتوغرافيا عالية الأداء HPLC، لتحليل الأمبيسيلين والأشكال الصيدلانية الحاوية عليه، فتمكنا من تحديد تركيزه و فصله عن منتجات التخرب والشوائب المرافقة^[9]، و بذلك حققنا شروط الطريقة التحليلية المعبرة عن الثباتية وفق ICH Q1A (R2) وتعريف إدارة الغذاء والدواء الأمريكية FDA للطريقة لعام 1998، المطور عن التعريف الوارد لعام 1987، بعد نجاح التقنيات الحديثة في التحليل الصيدلاني بشكل غير مسبوق، وقدرتها على إعطاء معلومات تحليلية لم تكن توفرها الطرق التحليلية التقليدية^[10]. وقد توالت الدراسات التحليلية بتقنية الكروماتوغرافيا على الأمبيسيلين وأشكاله الصيدلانية محققة الكثير من النجاحات .

وفي 1991 درس كلاً من R. Oliyai and S. Lindenbaum ثباتية الأمبيسيلين في محاليله المائية بطريقة مقياس اليود، وحددا ثابتة تفاعل التخرب Constant Rate (k) في درجات pH مختلفة (حمضية وقلوية)، و قارنا النتائج التي حصلنا عليها بطريقة مقياس السرعات الحرارية الدقيقة Microcalorimetry^[11]. ولكن لم يتم إجراء أي دراسة مشابهة باستخدام مقياس اليود على معلقات للأمبيسيلين كطريقة تحليلية سهلة، غير مكلفة وذات مصدوقية عالية، واردة في دستور الأدوية الأمريكي^[12]. لا سيما في السنوات الأخيرة، إذ يتم إجراء دراسات لإيجاد شرايات للأمبيسيلين غير جافة (مسبق التعليق) Ready-mix وذلك في محاولة لتحسين ثباتيتها، بسبب ما قد ينجم من خطأ في النظام الجرعي بالنسبة للشرايات الجافة عند إضافة سائل التعليق من قبل المريض^[2].

أهمية البحث وأهدافه:

لطريقة مقياس اليود أهمية تحليلية في العديد من المجالات، وتستخدم بكفاءة لمعايرة الكثير من البنسيلينات والسيفالوسبورينات وفق إجراءات منصوص عليها في دستور الأدوية الأمريكي. وبذلك إن أمكن استخدام الطريقة لدراسة ثباتية معلقات الأمبيسيلين، يمكن إن تشكل طريقة متابعة للتخرب، سهلة ودقيقة وغير مكلفة. أو تحديد سبب التداخل وتحديد فيما إذا كان بالإمكان اعتبارها طريقة تحليلية نوعية معبرة عن الثباتية Specific Stability-Indicating Method، أو أنها طريقة تحليلية انتقائية معبرة عن الثباتية Selective Stability-Indicating Method .

طرائق البحث ومواده:

(1) الأجهزة :

جهاز الطيف الضوئي (مرئي . فوق بنفسجي) UV- Visible Spectrophotometer ، ياباني الصنع نوع Jasco-530 ، مع عدد من خلايا الكوارتز (سماكة 1cm) . جهاز قياس درجة الـ pH رقمي من شركة HANNA instruments موديل PH211 صنع رومانيا. جهاز تجفيف رقمي نوع CARBOLITE، جهاز تقطير الماء Performa Filter ايطالي، ميزان حساس رقمي شركة Sartorius ، صفائح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC محملة بالسيليكا جل 60F254 شركة Merck، ألمانيا . أدوات المعايرة الحجمية .

(2) المواد والمحاليل :

محلول مائي لليود 0.01N ، محلول ثيوسلفات الصوديوم 0.005N ، هيدروكسيد الصوديوم 1N، حمض كلور الماء 1.2N ، مشعر هلامة النشاء 0.5% ، مزيج (أسيبتون 80 جزء + حمض كلور الماء 0.1N) 20 جزء، طور

متحرك يتكون من أسيتون، ماء مقطر، تولوين، وحمض الخل الثلجي بالنسب (25:100:100:650) حسب الترتيب ، محلول كحولي لكاشف النينهيدرين 0.3% ، كاشف فهلنغ، أمببسيللين ثلاثي الهيدرات، جميع المواد المستخدمة ذات درجة تحليلية. ماء مقطر منزوع الشوارد، شراب الأمببسيللين الجاف محلي الصنع، و من نفس التحضير .

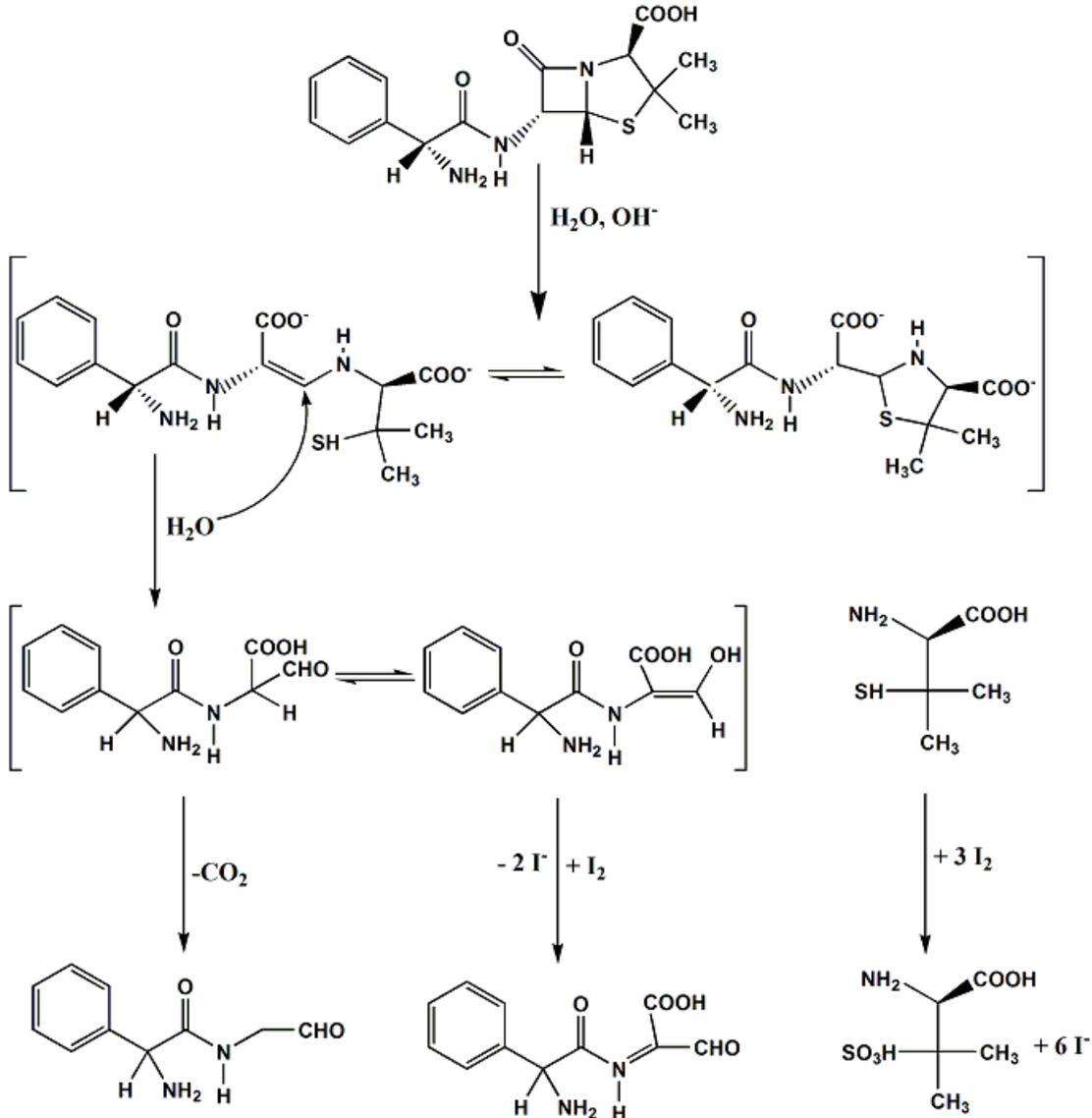
3) الإجراءات :

• المعايير الحجمية بمقياس اليود: يضاف 2ml هيدروكسيد الصوديوم إلى 2ml أمببسيللين، بتركيز 1.25mg/ml ، ويترك 15 دقيقة. ثم يضاف 2ml حمض كلور الماء، و 10ml محلول اليود ويترك 15 دقيقة. ثم معايرة اليود الزائد بمحلول ثيوسلفات الصوديوم ، باستخدام مشعر هلامة النشا [12] .

• المعايير الطيفية الضوئية: يضاف 3.5ml ماء مقطر إلى 2ml أمببسيللين معدل الـ pH بين 6.8-7 ، بتركيز 1mg/ml ، ومن ثم يضاف 0.5ml كاشف فهلنغ. بعد دقيقة واحدة يتم قياس الامتصاصية على طول موجة 558nm . ويتم عمل الناصع باستبدال محلول الأمببسيللين بـ 2ml ماء مقطر [13] .

• اختبار (Thin Layer Chromatography (TLC : تحل العينة في مزيج (الأسيتون + حمض كلور الماء 0.1N) ، بحيث يكون التركيز 5mg/ml ، وبعد تطبيق أخيدة من هذه العينة المحملة على صفيحة الـ TLC. يتم الترحيل بالطور المتحرك، ومن ثم تترك حتى تجف. وتتم عملية الإظهار بالإرذاذ بكاشف النينهيدرين، وتجفف لمدة ربع ساعة بدرجة حرارة 90°C [12] .

وفي المخطط التالي يمكن أن نبين مراحل تفاعل معايرة الأمببسيللين بمقياس اليود .



المخطط (1) : يبين مراحل تفاعل معايرة الأمبيسيلين بمقياس اليود [15].

النتائج والمناقشة:

في متابعة لتخرب معلقات الأمبيسيلين بمقياس اليود، قسمنا العينة المدروسة إلى نصفين، ثم حل النصف الأول باستخدام الماء المقطر والنصف الآخر باستخدام ماء غير مقطر، ومن ثم قسمنا كل نصف إلى نصفين، وحفظ نصف في درجة حرارة المخبر 25°C والنصف الآخر داخل البراد 4°C ، وبتطبيق العلاقتين (1,2) ، يمكن تحديد تركيز الأمبيسيلين في المعلق الفموي وفق دستور الأدوية الأمريكي [12].

$$F = (2CP)/(b - i) \quad (1)$$

$$\dot{C} = (T/D) (F/2000) (B - I) \quad (2)$$

حيث F : عامل التصحيح بالـ (mcg) ، C : تركيز العياري بالـ (mg/l) ، P : قوة المضاد الحيوي
 b : الحجم المستهلك من ثيوسلفات الصوديوم بالـ (ml) لمعايرة ناصع العياري ، i : الحجم المستهلك
 من ثيوسلفات الصوديوم بالـ (ml) لمعايرة محلول العياري .

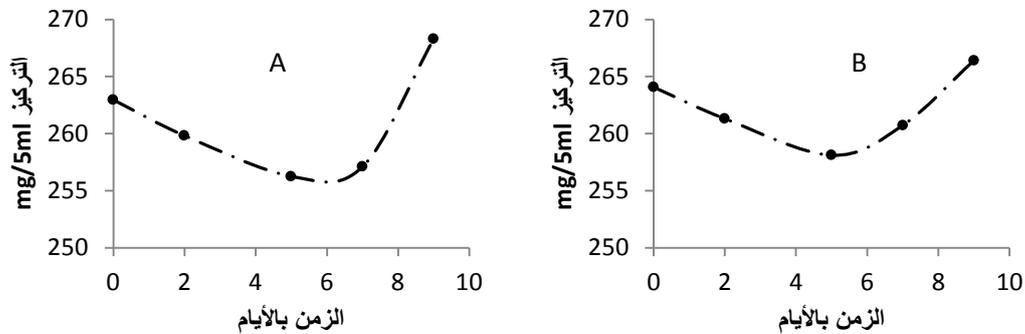
بينما في العلاقة (2) فإن \bar{C} : تركيز المعلق (mg/ml) ، T : التركيز المدون على عبوة المعلق (mg/ml) ،
 D : تركيز محلول العينة بعد التمديد (mg/ml) ، B : الحجم المستهلك من ثيوسلفات الصوديوم بالـ (ml) لمعايرة
 ناصع العينة ، I : الحجم المستهلك من ثيوسلفات الصوديوم بالـ (ml) لمعايرة محلول العينة .

(1) دراسة المعلقات باستخدام الماء غير المقطر:

تبين أن تركيز المادة الفعالة كان يتناقص بمقادير ليست كبيرة، وكان التخرب أبطأ بالنسبة للعينات المحفوظة
 في البراد، مما هو عليه بالنسبة للعينات المحفوظة بدرجة حرارة المخبر. ولكن بعد اليوم السابع من المتابعة كانت
 تظهر زيادة في التركيز مفاجئة ومستمرة . وقد كانت النتائج كما في التالي :

الجدول (1) : يبين تغيرات التراكيز الوسطية النهائية باستخدام ماء غير مقطر.

Time in days	In room temp 25 C°		In refrigerator 4 C°	
	Avg. conc. mg/5ml	Percentage %	Avg. conc. mg/5ml	Percentage %
0	262.95	105.18	264.07	105.63
2	259.82	103.93	261.31	104.52
5	256.25	102.50	258.10	103.24
7	257.10	102.84	260.72	104.29
9	268.30	107.32	266.40	106.56



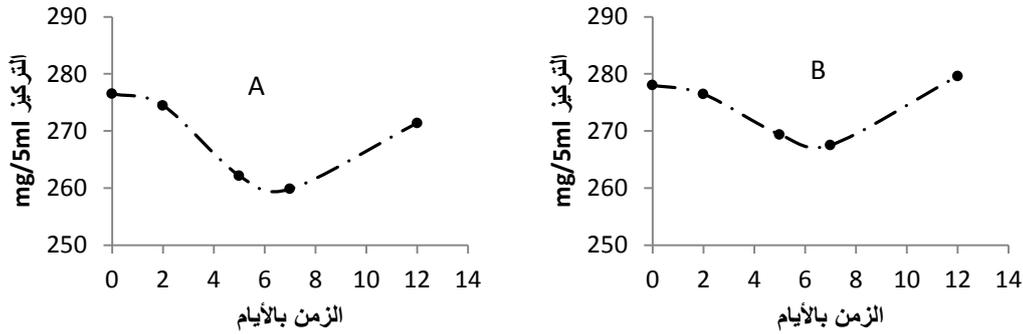
المخطط (2) : يبين تخرب الأمبيسيلين مقابل الزمن؛ (A): حرارة الغرفة، (B): حرارة البراد.

(2) دراسة المعلقات باستخدام الماء المقطر:

ونفس الأمر باستخدام الماء المقطر، فإن تركيز المادة الفعالة كان يتناقص بمقادير ليست كبيرة، وقد كان
 التخرب أبطأ بالنسبة للعينات المحفوظة في البراد، مما هو عليه بالنسبة للعينات المحفوظة بدرجة حرارة المخبر،
 باستثناء أن المعلقات أظهرت ثباتاً أفضل في الأيام الثلاثة الأولى. ولكن حدث نفس الأمر أيضاً، فبعد اليوم السابع من
 المتابعة كانت تظهر زيادة في التركيز مفاجئة و مستمرة . وقد كانت النتائج كما يلي:

الجدول (2): يبين تغيرات التراكيز الوسطية النهائية باستخدام ماء مقطر.

Time in days	In room temp 25 C°		In refrigerator 4 C°	
	Avg. conc. mg/5ml	Percentage %	Avg. conc. mg/5ml	Percentage %
0	276.53	110.6	278.01	111.2
2	274.47	109.79	276.46	110.58
5	262.12	104.8	269.37	107.75
7	259.82	103.9	267.53	107
12	271.39	108.55	279.61	111.8



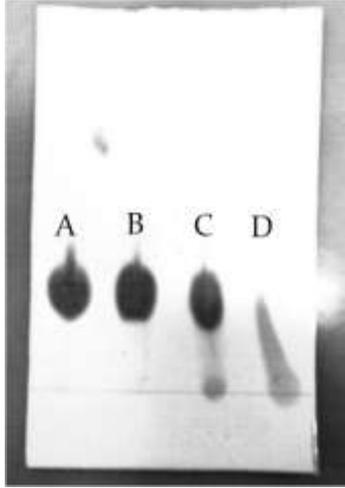
المخطط (3) : يبين تخرب الأمبيسيلين مقابل الزمن؛ (A): حرارة الغرفة، (B): حرارة البراد.

تفسير الزيادة المفاجئة والغير مبررة نظرياً في تركيز الأمبيسيلين.

إن الزيادة في التركيز المفاجئة هي بالتأكيد مجرد زيادة ظاهرية. وقد كشفت لنا هذه النتيجة وجود مكونات كيميائية تتداخل مع الأمبيسيلين في تفاعل المعايرة بمقياس اليود، ما يؤدي إلى زيادة في استهلاك اليود. وهذه المكونات الكيميائية المسئولة عن ذلك لا تخرج عن أمرين، فإما أنها إحدى مكونات السواغات الداخلة في تركيب المعلقات المدروسة، والتي قد تكون سيترات الصوديوم وحمض السيتريك وغلوكونات الصوديوم والسوربيتول البللوري والكوليديون LC-M و سكارين الصوديوم^[14]، أو أنها من نواتج تخرب الأمبيسيلين. ولمعرفة ذلك قمنا بإجراء بعض التجارب التالية :

(1) اختبار الطبقة الرقيقة .

قمنا بتعريض عينة من المعلق ممددة إلى تركيز 1.25mg/ml لأوكسجين الهواء وللضوء المحيط، لمدة الشهر والنصف، حتى تدرك الأمبيسيلين بشكل كامل فيها. ومن ثم أجرينا عليها اختبار كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC ، للتأكد من تخرب الأمبيسيلين بشكل تام . والمقارنة مع عينات أخرى، وكما يظهر في الشكل (1). نجد أن يقع الأمبيسيلين تظهر في العينات الثلاث C,B,A ، بينما في العينة المتخربة D نلاحظ عدم وجود بقعة الأمبيسيلين ما يدل على التخرب التام للأمبيسيلين .



الشكل (1) يبين تخرب
الأمبيسيللين بشكل تام.

حيث أن:

- A. أمبيسيللين عياري .
- B. مسحوق شراب الأمبيسيللين الجاف .
- C. معلق للأمبيسيللين .
- D. عينة المعلق المتخرية .

(2) معايرة العينة المتخرية .

ومن ثم قمنا بمعايرة أخيدة من العينة المتخرية بمقياس اليود، وفق الإجراءات الواردة أعلاه. فوجدنا أنها استهلكت 3.7ml من محلول اليود، والتي نظرياً يعني أنها لا زالت تحوي 59.21% من الأمبيسيللين. وهذا غير صحيح كما وجدنا باختبار الـ TLC ، وبالتالي أجرينا الدراسة التالية لتحديد فيما إذا كانت السواغات أو نواتج التخرب للأمبيسيللين هي التي استهلكت اليود .

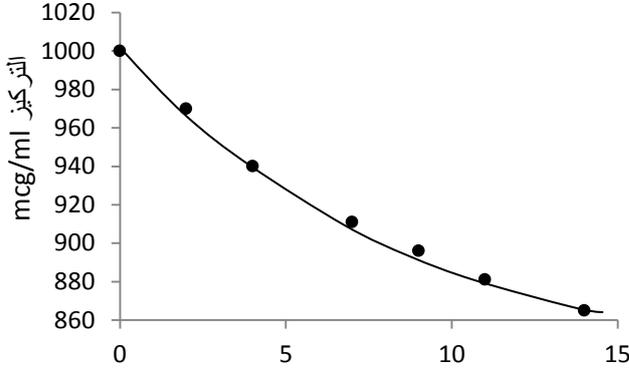
(3) متابعة تخرب المحلول المائي للأمبيسيللين ثلاثي الهيدرات .

قمنا بحل كمية من الأمبيسيللين ثلاثي الهيدرات العياري ما يعادل تركيز 1mg/ml من الأمبيسيللين اللامائي. ومتابعة التخرب بواسطة مقياس اليود ، وذلك لمعرفة فيما إذا كانت نواتج التخرب هي التي تتداخل مع الأمبيسيللين في تفاعل المعايرة ، وقد لاحظنا وجود تناقص مستمر في تركيز الأمبيسيللين ولم تظهر أي زيادة في التركيز. وبالتالي نجد أن نواتج التخرب لا تتداخل في تفاعل معايرة الأمبيسيللين بمقياس اليود .

وقد عملنا على مقارنة النتائج بمتابعة تخرب نفس المحاليل المائية للأمبيسيللين بطريقة مقياس الطيف الضوئي، باستخدام كاشف فهلغ. و وجدنا أن النتائج التي حصلنا عليها بالطريقتين كانت متطابقة بشكل كبير، كما توضح النتائج التالية:

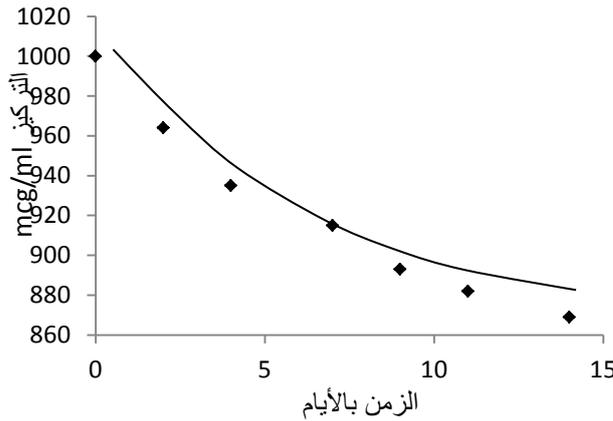
الجدول (3) متابعة تغيرات تراكيز

الأمبيسيللين بمقياس اليود



التركيز (mcg/ml)	حجم الثيوسلفات الصوديوم (ml)	الزمن بالأيام
1000	3	0
970	3.2	2
940	3.4	4
911	3.6	7
896	3.7	9
881	3.8	11
866	3.9	14

المخطط (4) متابعة تغيرات تراكيز الأمبيسيللين بمقياس اليود



الجدول (4) متابعة تغيرات تراكيز

الأمبيسيللين بمقياس الطيف الضوئي

التركيز (mcg/ml)	الامتصاصية	الزمن بالأيام
1000	0.2710	0
964	0.2613	2
935	0.2535	4
915	0.2480	7
893	0.2420	9
882	0.2389	11
869	0.2355	14

المخطط (5) يبين تغيرات تراكيز الأمبيسيللين

بمقياس الطيف الضوئي

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

إذاً من خلال هذه الدراسة نجد أن السواغات الداخلة في تركيب المعلقات هي المسئولة عن التداخل الحاصل مع الأمبيسيللين بمقياس اليود، وليس نواتج تحارب الأمبيسيللين. وبالتالي لا يمكن اعتبار مقياس اليود طريقة تحليلية معبرة عن الثباتية، بالنسبة لمعلق الأمبيسيللين، على الرغم من ورودها في دستور الأدوية الأمريكي. وإنما يمكن أن تكون مفيدة لإجراء فحص المحتوى، فنظراً للانحلال الضعيف للسواغات كونها مركبات عضوية ضخمة الجزيئات، يكون التداخل بسيطاً عند الحل، والذي يمكن حسابه بعمل شاهد Control. ولكن الانحلال يزيد مع الزمن ما يؤدي إلى زيادة التداخل بشكل كبير، ما يجعل عمل الشاهد غير عملي. وما أكد ذلك لنا هو استخدام محلول كحولي لليود، إذ كانت نتيجة المعايرة الأولى أكبر منها في حالة استخدام محلول مائي، وكانت المعايير اللاحقة تعطي تراكيز

متزايدة باستمرار، إذ لم يظهر ذلك التناقص في الأيام السبعة الأولى الملاحظة في حالة المعايرة بمحلول مائي. وتعد الطرق التحليلية الحديثة مثل الكروماتوغرافيا والطيف الضوئي هي الأكثر كفاءة لذلك .

التوصيات:

ولكن يمكن عموماً من خلال النتائج التي حصلنا عليها بطريقة مقياس اليود أن نوصي بأفضلية استخدام الماء المقطر لتعليق شراب الأمبيسيلين الجاف، وأن يحفظ في البراد أثناء الاستخدام. كما نجد انه لا يمكن أن تستخدم هذه الطريقة كطريقة مقياسة Assay معبرة عن الثباتية لمعلقات الأمبيسيلين ثلاثي الهيدرات .

المراجع:

1. BAROT, T. G. *et al.* Development and Validation of LC Method for the Determination of Ampicillin and Dicloxacillin in Pharmaceutical Formulation Using an Experimental Design. *Journal of Chemistry*, 2009, Vol.6(4), 955-964.
2. JAFAR, M.; AEJAZ, A. *Studies on Ready-mix Suspension of Ampicillin Trihydrate: Development, Characterization and In-Vitro Evaluation.* *Int J Pharmacy Pharm Sci*, 2010, Vol.2: 109-112.
3. SHAFIQUE, A. A. *et al.* Spectrophotometric Determination of Ampicillin, Amoxicillin and Carbencillin Using Folin-Ciocalteu Phenol Reagent. *Journal of Analytical Chemistry*, 2004, Vol.59(2), 119-123.
4. BARBHAIYA, R.H.; TURNER, P. *Fluorimetric Determination of Ampicillin and Epicillin.* *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1977, Vol.3, 423-427.
5. CASU, B.; VENTURA, P. *Simple and Specific Assay of Penicillins by IR Spectrophotometry in Deuterium Oxide and Dimethyl Sulfoxide Solutions.* *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1974, Vol.63, 211-218. first published online: 2006.
6. SMITH, J.W.G. *et al.* *The Spectrophotometric Determination of Ampicillin.* *Analyst*, 1967, Vol.92, 247-252.
7. ABUZUHRI, A. Z. *et al.* *Spectrophotometric Determination of Ampicillin by Ternary Complex Formation with 1,10-Phenanthroline and Copper(II) .* *Microchemical Journal*, 1994, Vol.50(1), 111-115.
8. HUAKAN, Li. *et al.* *Application of Charge Transfer Reaction in the Determination of Ampicillin.* *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 1997-01.
9. OMAR, S.; ROBERT, B.T. *Analysis of Ampicillin, Cloxacillin and their Related Substances in Capsules, Syrups and Suspensions by High Performance Liquid Chromatography.* *Analyst*, 1996, Vol.121, 1473-1477.
10. SHEIN-Chung Chow, *et al.* *Statistical Design and Analysis of Stability Studies.* 2007, Taylor & Francis Group, p9.
11. OLIYAI, R.; LINDENBAUM, S. *Stability Testing of Pharmaceuticals by Isothermal Heat Conduction Calorimetry: Ampicillin in Aqueous Solution.* *Int. J. Pharm*, 1991, 73, 33-36.
12. *United States of America Pharmacopeia* 30, 2007.
13. SETHI, P.D. *quantitative analysis of drugs in pharmaceutical formulations, formulation 6: Ampicillin.* 1997, p277-278.
14. BÜHLER, V. *Generic Drug Formulations, Formulation of Granules, Dry Syrups and Lyophilisates, Ampicillin Dry Syrup 5%.* 1998, 2nd ed, BASF Fine Chemicals.
15. Eger. Troschuetz. Roth, *ARZNEISTOFFANALYSE, 5. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag*, 2006.