CALCULATIONS

เบ็ดเตล็ด

Loss on drying

⟨731⟩ LOSS ON DRYING

Change to read:

The procedure set forth in this chapter determines the amount of volatile matter of any kind that is driven off under the conditions specified, ▲which is defined as Loss on Drying value.▲ (USP 1-Aug-2020) For substances appearing to contain water as the only volatile constituent, the procedure given in *Water Determination* ⟨921⟩ is appropriate, and is specified in the individual monograph.

Unless otherwise directed in the individual monograph, conduct the determination of Loss on Drying on a 1- to 2-g test specimen. Mix the substance to be tested and, if it is in the form of large particles, reduce the particle size to about 2 mm by ▲▲ (USP 1-Aug-2020) crushing before weighing ▲it▲ (USP 1-Aug-2020) out. ▲▲ (USP 1-Aug-2020) Tare an appropriate glass-stoppered▲▲ (USP 1-Aug-2020) weighing bottle that has been dried for about 30 min under the same conditions to be employed in the determination and cooled to room temperature in a desiccator. Put the test specimen in the bottle, replace the ▲stopper,▲ (USP 1-Aug-2020) and accurately weigh the ▲stoppered▲ (USP 1-Aug-2020) bottle and the contents. By gentle, sidewise shaking, distribute the test specimen as evenly as practicable to a depth of about 5 mm generally, and NMT 10 mm in the case of ▲low bulk density▲ (USP 1-Aug-2020) materials. Place the loaded bottle in the drying chamber, ▲remove▲ (USP 1-Aug-2020) the stopper and ▲leave▲ (USP 1-Aug-2020) it also in the chamber. Dry the test specimen at the▲specified▲ (USP 1-Aug-2020) temperature and time ▲conditions.

[NOTE—The Loss on Drying value is a function of both temperature and time. Therefore, these values must be identified and reported.▲ (USP 1-Aug-2020) The temperature specified in the monograph is to be regarded as being within the range of ±2° of the stated ▲value.▲ (USP 1-Aug-2020)]

$$\%LOD = \frac{(W_2 - W_1) - (W_3 - W_1)}{(W_2 - W_1)} \times 100$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักภาชนะเปล่า

W_2 = น้ำหนักภาชนะ + สาร ก่อนอบ

W_3 = น้ำหนักภาชนะ + สาร หลังอบ

เบ็ดเตล็ด

Loss on ignition

⟨733⟩ LOSS ON IGNITION

Change to read:

This procedure is provided for the purpose of determining the percentage of test material that is volatilized and driven off under the conditions specified.

Perform the test on finely powdered material, and break up lumps, if necessary, with the aid of a mortar and pestle before weighing the specimen. Weigh the specimen to be tested without further treatment, unless a preliminary drying at a lower temperature, or other special pretreatment, is specified in the individual monograph. Unless other equipment is designated in the individual monograph, conduct the ignition in a suitable muffle furnace or oven that is capable of maintaining a temperature within 25° of that required for the test, and use a suitable crucible, complete with cover, previously ignited for 1 h at the temperature specified for the test, cooled in a desiccator, and accurately weighed.

Unless otherwise directed in the individual monograph, transfer to the tared crucible an accurately weighed quantity, in g, of the substance to be tested, about equal to that calculated by the formula:

$$10/L$$

in which *L* is the limit (or the mean value of the limits) for Loss on Ignition, in percentage. Ignite the loaded uncovered crucible, and cover at the temperature (±25°) and for the period of time designated in the individual monograph. When "ignition to constant weight" is specified in a monograph, ignite for successive 1-h periods until two consecutive weighings do not differ by more than 0.50 mg/g of specimen. Upon completion of each ignition, cover the crucible, and allow it to cool in a desiccator to room temperature before weighing ▲accurately▲ (ERR 1-Nov-2020).

$$\%LOD = \frac{(W_2 - W_1) - (W_3 - W_1)}{(W_2 - W_1)} \times 100$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักภาชนะเปล่า

W_2 = น้ำหนักภาชนะ + สาร ก่อนเผา

W_3 = น้ำหนักภาชนะ + สาร หลังเผา

Assay

API

$$\% \text{ content (\% as-is)} = \frac{Weight\ of\ API}{Total\ weight\ of\ sample\ assayed} \times 100$$

% based on the as-is basis	Q/T x 100
% based on the dried basis	[Q/T/(100-LOD/100)] x 100 LOD = % Loss on drying
% based on the anhydrous basis	[Q/T/(100-W/100)] x 100 W = % water content
% based on the ignited basis	[Q/T/(100-I/100)] x 100 I = % Loss on ignition
% based on the anhydrous and solvent-free basis	[Q/T/(100-A-B)/100] x 100 A = % water content, B = solvent free content

การวิเคราะห์โดยเทียบสารมาตรฐาน

1. วิธี External standard
2. วิธี Internal standard
3. วิธี Standard Addition

Two-point calibration

Multipoint calibration

HPLC/GC/UV – Two-point

เทียบบัญญัติไตรยางศ์

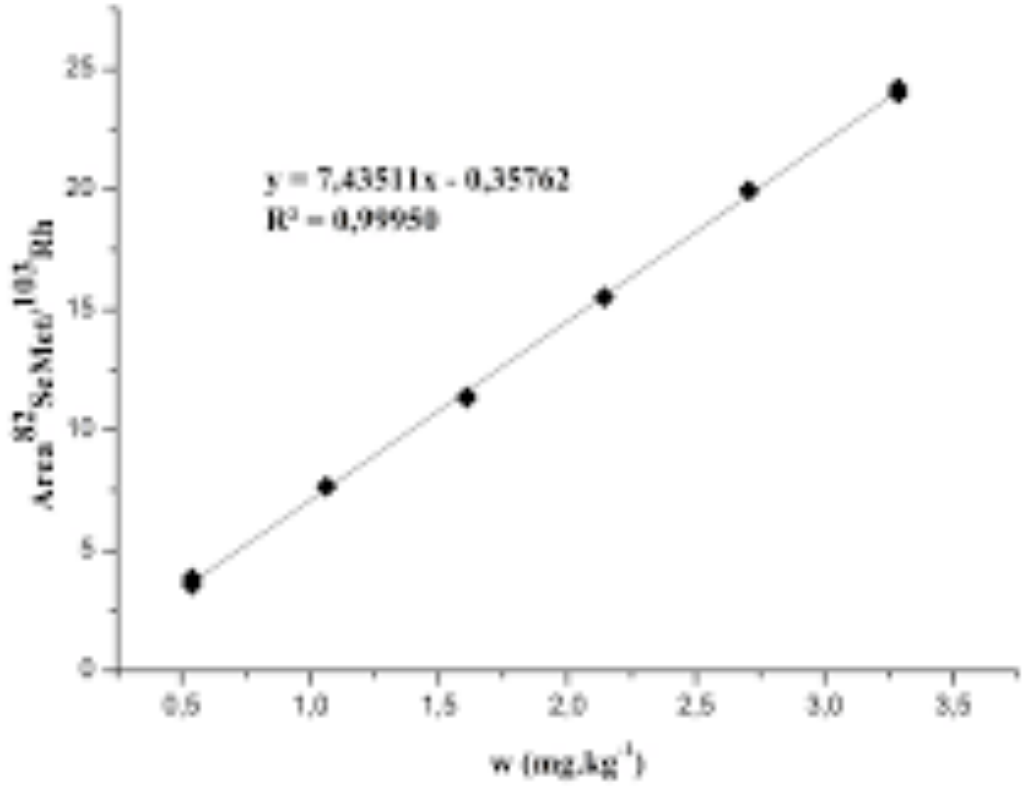
ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (C_s) ⟶ Respond (R_s)

ความเข้มข้นของ Sample (C_u) ⟶ Respond (R_u); $C_u = \frac{R_u}{R_s} \times C_s$

น้ำหนักของ Std x $\frac{\%Purity}{100}$ x $\frac{1}{\text{ปริมาตรที่ใช้}}$

$$\%\ \text{Labeled amount} = \frac{\text{ปริมาณที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ปริมาณที่ระบุไว้บนฉลาก}} \times 100$$

Multipoint calibration



External standard

การวิเคราะห์ Cloxacillin injection ทำโดยอาศัยปฏิกิริยาที่ประกอบด้วย Mercury-imidazole เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Cloxacillin การเตรียมตัวอย่างและสารมาตรฐานทำโดยเจือจางตัวอย่างหรือสารมาตรฐานในน้ำ 500 mL แบ่งสารละลาย 25 mL ไปเจือจางต่อแล้วปรับปฏิกิริยาจนครบ 100 mL จากนั้นนำสารละลายของสารตัวอย่างหรือของสารมาตรฐาน 2 mL ไปทำปฏิกิริยากับ Mercury-imidazole แล้วนำไปวัดการดูดกลืนแสง

จงคำนวณปริมาณ Cloxacillin ใน 1 Vial ถ้ากำหนดข้อมูลดังต่อไปนี้

Weight of content of 10 vials = 2.653 g

Weight of injection powder used for assay = 0.1114 g

Weight of cloxacillin standard used in calibration solution = 0.1015 g

Absorbance of sample solution = 0.111

Absorbance of standard solution = 0.106

External standard

Weight of cloxacillin in sample = $\frac{absorbance\ of\ sample}{absorbance\ of\ standard}$ x weight of standard

= $\frac{0.111}{0.106}$ x 0.1015 = 0.1063 g

จาก weight of content of 10 vials = 2.653 g ทำให้สามารถคำนวณน้ำหนักผงยาในหนึ่ง Vial ได้

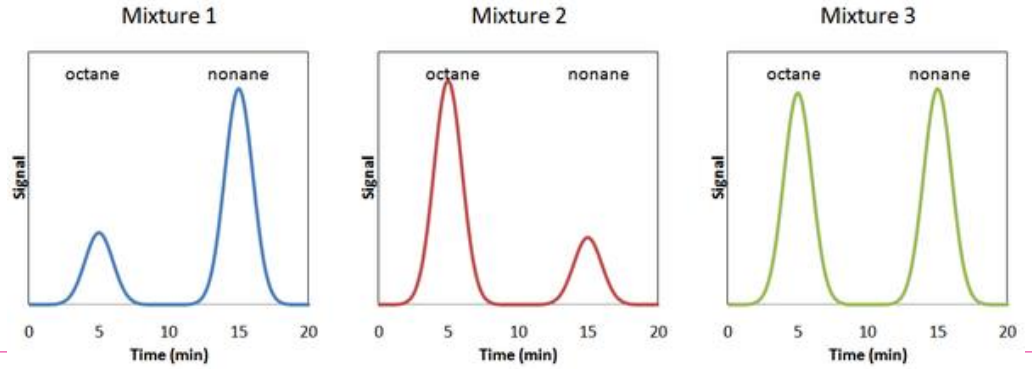
ผงยา Cloxacillin ในหนึ่ง Vial เท่ากับ $\frac{2.653}{10}$ = 0.2653 g

ผงยาที่นำมาวิเคราะห์ 0.1114 g มีตัวยา Cloxacillin 0.1063 g

ผงยาในหนึ่ง Vial 0.2653 g มีตัวยา Cloxacillin $\frac{0.1063}{0.1114}$ x 0.2653 = 0.2532 g

ดังนั้น ในหนึ่ง Vial มีตัวยา Cloxacillin 0.2532 g

Internal standard



$$\frac{R_s}{C_s} = F\ x\ \frac{R_i}{C_i}$$

เมื่อ F เป็น Response factor ซึ่งเมื่อคำนวณค่า F ได้แล้ว จะนำไปคำนวณหา Sample ที่สนใจ

$$\frac{R_u}{C_u} = F\ x\ \frac{R_i}{C_i}$$

Internal standard

ในการวิเคราะห์สาร A ทำโดยเตรียมชุด Standard mixture ซึ่งประกอบด้วยสารมาตรฐาน A เข้มข้น 0.0837 M และสารมาตรฐาน B (internal standard) เข้มข้น 0.0666 M เมื่อนำไปวิเคราะห์โดยวิธีโครมาโตกราฟี พบว่า peak area ของสาร A เท่ากับ 423 และ peak area ของสาร B เท่ากับ 347

ในชุดตัวอย่างทำโดยเติมสารมาตรฐาน B ซึ่งมีความเข้มข้น 0.0146 M ปริมาตร 10.0 mL ลงไปในตัวอย่างปริมาตร 10.0 mL แล้วปรับปริมาตรจนเป็น 25.0 mL ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีการและสภาวะเหมือนกับชุด Standard mixture พบว่า Peak area ของสารที่สนใจ (A) เท่ากับ 553 และ Peak area ของสาร B เท่ากับ 582

จงคำนวณความเข้มข้นของสาร A ที่มีอยู่ในตัวอย่างเริ่มต้น

Internal standard

ชุด Standard mixture

แทนค่า $C_s = 0.0837$ M, $R_s = 423$, $C_i = 0.0666$ M, $R_i = 347$ ลงในสมการ

$$F = \frac{423\ x\ 0.0666}{347\ x\ 0.0847} = 0.970$$

ชุดตัวอย่าง

คำนวณค่าความเข้มข้นของ Internal standard B ($C_{i.}$) ในสารละลายปริมาตร 25.0 mL เมื่อ Dilution factor คือ 10.0/25.0

$$C_{i.} = 0.146\ \text{M} \times \frac{10.0}{25.0} = 0.0584\ \text{M}$$

แทนค่า $C_{i.} = 0.0584$ M, $R_{i.} = 582$, $R_u = 553$ และ $F = 0.970$ ลงในสมการเพื่อหาค่า C_u

$C_u = 0.0572$ M

ความเข้มข้นของสาร A ในตัวอย่างเริ่มต้นเท่ากับ (0.0572 x 25.0)/10.0 = 0.143 M

Standard addition

ให้ตัวอย่างซึ่งมีความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์เป็น $[X_i]$ ให้สัญญาณการวัดเป็น I_x หลังจากนั้นแบ่งตัวอย่างมาส่วนหนึ่งแล้วเติม (Spike) สารมาตรฐานลงไป และให้สัญญาณการวัดเพิ่มขึ้นเป็น I_{x+s} จะได้ว่า

$$\frac{Conc.of\ analyte\ in\ initial\ sample}{Conc.of\ analyte\ plus\ standard\ in\ final\ solution} = \frac{signal\ from\ initial\ sample}{signal\ from\ final\ solution}$$

$$\frac{[X_i]}{\{S\}_f + [X]_f} = \frac{I_x}{I_x + s}$$

Standard addition

นำสารตัวอย่างมาวิเคราะห์ Cu^{2+} โดยวิธี Atomic absorption ได้ค่า Absorbance 0.262 จากนั้นเติมสารละลายที่มี Cu^{2+} 100.0 ppm 1.00 mL ลงในสารตัวอย่าง 95.0 mL แล้วปรับปริมาตรเป็น 100.0 mL ใน Volumetric flask สารละลายนี้ให้ค่า absorbance เท่ากับ 0.500 จงคำนวณความเข้มข้นของ Cu^{2+} ในสารตัวอย่าง

ความเข้มข้นของสารมาตรฐานใน Final solution

$[S]_f = 100.0\ ppm \times 1.0\ mL / 100.0\ mL = 1.00\ ppm$

$[X]_f = [X]_i \times 95.0\ mL / 100.0\ mL = 0.95[X]_i$

แทนค่าในสมการ $\frac{[X]_i}{[S]_f + [X]_f} = \frac{I_x}{I_{x+s}}$

$$\frac{[X]_i}{1.00\ ppm + 0.95[X]_i} = \frac{0.262}{0.500}$$

$[X]_i = 1.04\ ppm$

Titration

Direct titration

Back titration

Indirect titration

Direct titration

สารที่ต้องการวิเคราะห์ a moles ทำปฏิกิริยากับสมมูลพอดีกับไทแทรนต์ t moles

$$tT + aA \longrightarrow \text{Products}$$

$$\frac{mole\ of\ titrant}{t} = \frac{mole\ of\ sample}{a}$$

$$\text{Mole of sample} = \frac{a}{t}\ x\ mole\ of\ titrant$$

หาความเข้มข้นในหน่วย Molarity

$$\frac{grams\ of\ sample}{eq.wt.\ of\ sample} = \text{(normality of titrant) x (volume of titrant– litres)}$$

หาความเข้มข้นในหน่วย Normality

Direct titration

ในการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารละลาย 0.5 N H_2SO_4 โดยไทเทรตกับสารมาตรฐานปฐมภูมิ Na_2CO_3 (MW = 105.99) 0.5855 กรัม พบว่าที่จุดยุติใช้สารละลาย H_2SO_4 ในการทำปฏิกิริยา 21.85 mL และในการไทเทรต Blank ใช้ H_2SO_4 ไป 0.10 mL จงหาความเข้มข้นของสารละลายดังกล่าว (Titer: 0.5 N H_2SO_4 1 mL ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับ Na_2CO_3 26.50 mg)

$$H_2SO_4 + Na_2CO_3 \longrightarrow Na_2SO_4 + H_2O + CO_2$$

จำนวนกรัมสมมูลของ Na_2CO_3 = จำนวนกรัมสมมูลของ H_2SO_4

$$\frac{grams\ of\ Na_2CO_3}{eq.wt.of\ Na_2CO_3} = (\text{normality of } H_2SO_4) \text{ x } (\text{litres of } H_2SO_4)$$

$$\frac{0.5855}{(105.99)/2} = (\text{normality of } H_2SO_4) \text{ x } (21.75/1000 \text{ L})$$

Direct titration

ในการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารละลาย 0.5 N H_2SO_4 โดยไทเทรตกับสารมาตรฐานปฐมภูมิ Na_2CO_3 (MW = 105.99) 0.5855 กรัม พบว่าที่จุดยุติใช้สารละลาย H_2SO_4 ในการทำปฏิกิริยา 21.85 mL และในการไทเทรต Blank ใช้ H_2SO_4 ไป 0.10 mL จงหาความเข้มข้นของสารละลายดังกล่าว (Titer: 0.5 N H_2SO_4 1 mL ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับ Na_2CO_3 26.50 mg)

$$H_2SO_4 + Na_2CO_3 \longrightarrow Na_2SO_4 + H_2O + CO_2$$

จำนวนโมลของ Na_2CO_3 = จำนวนโมลของ H_2SO_4

$$\frac{grams\ of\ Na_2CO_3}{MW\ of\ Na_2CO_3} = \frac{1}{1}\ x\ (\text{molarity of } H_2SO_4) \text{ x } (\text{litres of } H_2SO_4)$$

$$\frac{0.5855}{105.99} = (\text{molarity of } H_2SO_4) \text{ x } (21.75/1000 \text{ L})$$

Direct titration

ในการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารละลาย 0.5 N H_2SO_4 โดยไทเทรตกับสารมาตรฐานปฐมภูมิ Na_2CO_3 (MW = 105.99) 0.5855 กรัม พบว่าที่จุดยุติใช้สารละลาย H_2SO_4 ในการทำปฏิกิริยา 21.85 mL และในการไทเทรต Blank ใช้ H_2SO_4 ไป 0.10 mL จงหาความเข้มข้นของสารละลายดังกล่าว (Titer: 0.5 N H_2SO_4 1 mL ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับ Na_2CO_3 26.50 mg)

$$H_2SO_4 + Na_2CO_3 \longrightarrow Na_2SO_4 + H_2O + CO_2$$

จาก Titer Na_2CO_3 26.50 mg ทำปฏิกิริยาพอดีกับ 0.5 N H_2SO_4 1 mL

Na_2CO_3 0.5855 g หรือ 585.5 mg ทำปฏิกิริยาพอดีกับ 0.5 N H_2SO_4 $\frac{1\ mL\ x\ 585.5\ mg}{26.50\ mg}$ = 22.09 mL

คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลาย (N_1) จาก

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

N_1 x 21.75 mL = 0.5 N x 22.09 mL

Back titration

$$pR_{excess} + aA \longrightarrow Products_1 + R_{residual}$$

$$qR_{residual} + tT \longrightarrow Products_2$$

X — ปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์

Y — ปริมาณสารละลายชนิดที่ 1 ซึ่งมากเกินพอ

Z — ปริมาณไทแทรนต์ที่ใช้ในการไทเทรตกลับ

ความเข้มข้น molarity (M_R)
หรือ Normality (N_R)
ปริมาตรที่เติมลงไป (V_R)

ความเข้มข้น molarity (M_T)
หรือ Normality (N_T)
ปริมาตรที่เติมลงไป (V_T)

Back titration

ปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์ = ปริมาณสารละลายชนิดที่ 1 – ปริมาณไทแทรนต์ที่ใช้ในการไทเทรต

$$X = Y - Z$$

สามารถคำนวณปริมาณสารได้จากน้ำหนัก

$$\frac{grams\ of\ A}{MW\ of\ A} = \frac{a}{p}[M_R V_R - \frac{q}{t} M_T V_T]$$ เมื่อปริมาตร (V) มีหน่วยเป็นลิตรและความเข้มข้นเป็น M

$$\frac{grams\ of\ A}{eq.wt.of\ A} = N_R V_R - N_T V_T]$$ เมื่อปริมาตร (V) มีหน่วยเป็นลิตรและความเข้มข้นเป็น N

Back Titration

การวิเคราะห์หาปริมาณ NaCl (MW = 58.5) ในน้ำเกลือ 0.9 % Normal Saline ทำโดยวิธีปิเปตน้ำเกลือ 10.0 mL ใส่ลงในฟลาสค์ แล้วปิเปตสารละลายมาตรฐาน 0.1125 N AgNO3 25.0 mL ลงไปทำปฏิกิริยา จากนั้นไทเทรต AgNO3 ที่เหลือด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NH4SCN พบว่าใช้ NH4SCN ไป 11.25 mL

จงคำนวณปริมาณ NaCl ที่วิเคราะห์ได้เทียบกับปริมาณที่ระบุไว้บนฉลาก

(เมื่อ 0.1125 N $AgNO_3$ 25.0 mL) ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับ 0.1 N NH_4SCN 23.80 mL)

จากความสัมพันธ์

0.1 N NH_4SCN 23.80 mL ทำปฏิกิริยาพอดีกับ 0.1125 N $AgNO_3$ 25.0 mL

0.1 N NH_4SCN 11.25 mL ทำปฏิกิริยาพอดีกับ 0.1125 N $AgNO_3$ $\frac{25.0\ mL\ x\ 11.25\ mL}{23.80\ mL}$ mL = 11.82 mL

Back Titration

การวิเคราะห์หาปริมาณ NaCl (MW = 58.5) ในน้ำเกลือ 0.9 % Normal Saline ทำโดยวิธีปิเปตน้ำเกลือ 10.0 mL ใส่ลงในฟลาสค์ แล้วปิเปตสารละลายมาตรฐาน 0.1125 N AgNO3 25.0 mL ลงไปทำปฏิกิริยา จากนั้นไทเทรต AgNO3 ที่เหลือด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NH4SCN พบว่าใช้ NH4SCN ไป 11.25 mL

จงคำนวณปริมาณ NaCl ที่วิเคราะห์ได้เทียบกับปริมาณที่ระบุไว้บนฉลาก

(เมื่อ 0.1125 N $AgNO_3$ 25.0 mL) ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับ 0.1 N NH_4SCN 23.80 mL)

คำนวณปริมาณของ NaCl โดยใช้ Titer

0.1 N $AgNO_3$ 25.0 mL ทำปฏิกิริยาสมมูลกับ NaCl 5.85 mg

0.1 N $AgNO_3$ 25.0 – 11.82 mL ทำปฏิกิริยาสมมูลกับ NaCl $\frac{5.85\ mg\ x\ (25.0\ -11.82) mL\ x\ 0.1125\ N}{1\ mL\ x\ 0.1\ N}$ mg = 86.76 mg ในน้ำเกลือ 10.0 mL

% Labeled amount = $\frac{0.8676}{0.9}$ x 100 = 96.40 %

Indirect titration

$$rR_{excess} + aA \longrightarrow pProducts_1 + R_{residual}$$

$$qProduct_1 + tT \longrightarrow Products_2$$

การบ้าน

นำ Hydrogen peroxide ในขวดมีฉลากระบุว่า 3 % Hydrogen peroxide มาวิเคราะห์โดยทำปฏิกิริยากับ Bromine

$$H_2O_2 + Br_2 \longrightarrow 2H+ O_2 + 2Br-$$

แล้วไทเทรต Hydronium ion เกิดขึ้นด้วยสารละลายมาตรฐาน NaOH

$$H^+ + NaOH \longrightarrow H_2O + Na^+$$

ถ้าปิเปตสารละลายในขวดมา 5.0 mL แล้วเติม Bromine มากเกินพอเพื่อทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 10 นาที แล้วกำจัด Bromine ที่มากเกินพอออกไป จากนั้นไทเทรตกรดที่เกิดขึ้นโดยใช้สารละลาย 0.2587 N NaOH พบว่าใช้ไทแทรนต์ไป 22.25 mL จนถึงจุดยุติพอดี จงคำนวณ $\%H_2O_2$ (W/V) ของสารละลายในขวด

Related compound

Using Difference concentration of Test sample

Using a Reference standard

Using Relative Response factor

IMPURITIES

• ORGANIC IMPURITIES

It is suggested to protect all solutions containing acetaminophen or 4-aminophenol from light.

Buffer: Dissolve 1.9 g of ammonium formate in 1 L of water. Add 1.0 mL of formic acid.

Solution A: Dissolve 3.1 g of ammonium acetate in 1 L of water. Add 1.0 mL of trifluoroacetic acid.

Solution B: Acetonitrile, methanol, and water (10:75:15)

Solution C: Dissolve 3.1 g of ammonium acetate in 1000 mL of *Solution B*. Add 1.0 mL of trifluoroacetic acid.

Mobile phase: See *Table 2*. Return to original conditions and re-equilibrate the system for 4 min.

Table 2

Time (min)	Solution A (%)	Solution C (%)
0	97	3
5	70	30
10	10	90
11	10	90

Diluent: Methanol and *Buffer* (5:95)

Sensitivity solution: 0.000175 mg/mL of USP 4-Aminophenol RS in *Diluent*. Sonicate to dissolve, if necessary.

Standard solution: 0.00175 mg/mL of USP 4-Aminophenol RS and 0.0035 mg/mL of USP Acetaminophen RS in *Diluent*. Sonicate to dissolve, if necessary.

Sample stock solution: Nominally 5 mg/mL of acetaminophen in *Diluent* from NLT 10 Tablets. [NOTE—It is recommended to shake on a flat bed at low speed (180 oscillations/min) to dissolve, if necessary.]

Sample solution: Nominally 3.5 mg/mL of acetaminophen in *Diluent* prepared as follows. Pass a portion of the *Sample stock solution* through a suitable filter of 0.2-µm pore size. Discard the first 2 mL of the filtrate. Dilute a suitable volume of the filtrate with *Diluent* to volume.

Chromatographic system
(See *Chromatography* ⟨621⟩, *System Suitability*.)
Mode: LC
Detector: UV 272 nm. For *Identification B*, use a diode array detector in the range of 200–400 nm.
Column: 4.6-mm × 15-cm; 3-µm packing L1
Column temperature: 40°
Flow rate: 0.9 mL/min
Injection volume: 25 µL

System suitability
Samples: *Sensitivity solution* and *Standard solution*
Suitability requirements
Relative standard deviation: NMT 5.0% for 4-aminophenol and acetaminophen, *Standard solution*
Signal-to-noise ratio: NLT 10 for 4-aminophenol, *Sensitivity solution*

Analysis
Samples: *Standard solution* and *Sample solution*
Calculate the percentage of 4-aminophenol in the portion of Tablets taken:

$$\text{Result} = (r_U/r_S) \times (C_S/C_U) \times 100$$

r_U = peak response of 4-aminophenol from the *Sample solution*
r_S = peak response of 4-aminophenol from the *Standard solution*
C_S = concentration of USP 4-Aminophenol RS in the *Standard solution* (mg/mL)
C_U = nominal concentration of acetaminophen in the *Sample solution* (mg/mL)

Calculate the percentage of any unspecified impurity in the portion of Tablets taken:

$$\text{Result} = (r_U/r_S) \times (C_S/C_U) \times 100$$

r_U = peak response of any unspecified impurity from the *Sample solution*
r_S = peak response of acetaminophen from the *Standard solution*
C_S = concentration of USP Acetaminophen RS in the *Standard solution* (mg/mL)
C_U = nominal concentration of acetaminophen in the *Sample solution* (mg/mL)

Acceptance criteria: See *Table 3*.

Table 3

Name	Relative Retention Time	Acceptance Criteria, NMT (%)
4-Aminophenol	0.53	0.15
Acetaminophen	1.0	—
Any unspecified impurity	—	0.15
Total impurities	—	0.60

ADDITIONAL REQUIREMENTS

- **PACKAGING AND STORAGE:** Preserve in tight containers, and store at controlled room temperature.
- **LABELING:** Label Tablets that must be chewed to indicate that they are to be chewed before swallowing.
- **USP REFERENCE STANDARDS** ⟨11⟩
  USP Acetaminophen RS
  USP 4-Aminophenol RS
  4-Aminophenol.
  C_6H_7NO 109.13

Official

ASSAY

- **PROCEDURE**

Mobile phase: 0.02 M acetic acid

System suitability solution A: 0.1 mg/mL each of USP Acyclovir RS and guanine. Dissolve in 0.1 N sodium hydroxide, and dilute with water.

System suitability solution B: 2.0 µg/mL of guanine. Dissolve in 0.1 N sodium hydroxide, and dilute with water.

Standard solution: 0.1 mg/mL of USP Acyclovir RS. Dissolve in 0.1 N sodium hydroxide, and dilute with water.

Sample solution: Nominally 0.1 mg/mL of acyclovir prepared as follows. Transfer an amount of finely powdered Tablets equivalent to 10 mg of acyclovir (NLT 10 Tablets) to a 100-mL volumetric flask. Dissolve in 10 mL of 0.1 N sodium hydroxide, dilute with water to volume, and filter.

Chromatographic system

(See *Chromatography* ⟨621⟩, *System Suitability*.)

Mode: LC

Detector: UV 254 nm

Column: 4.6-mm × 25-cm; packing L1

Column temperature: 40°

Flow rate: 1.5 mL/min

Injection volume: 20 µL

System suitability

Samples: *System suitability solution A* and *System suitability solution B*

[NOTE—The relative retention times for guanine and acyclovir are about 0.6 and 1.0, respectively, in *System suitability solution A*.]

Suitability requirements

Resolution: NLT 2.0 between guanine and acyclovir, *System suitability solution A*

Relative standard deviation: NMT 2.0% for the acyclovir peak, *System suitability solution A*; NMT 2.0%, *System suitability solution B*

Analysis

requirements for *Weight Variation*

IMPURITIES

- **PROCEDURE**

Mobile phase, System suitability solution A, System suitability solution B, Sample solution, Chromatographic system, and **System suitability:** Proceed as directed in the *Assay*.

Analysis

Sample: *Sample solution*

Calculate the percentage of each impurity in the portion of Tablets taken:

$$\text{Result} = (r_U/r_T) \times 100$$

r_U = peak response for each impurity

r_T = sum of the responses for all of the peaks

Acceptance criteria: NMT 0.005%

- **ORGANIC IMPURITIES**

Solution A: Methanol, water, glacial acetic acid (50:950:1)
Solution B: Methanol, water, glacial acetic acid (500:500:1)
Mobile phase: See *Table 2*.

Table 2

Time (min)	Solution A (%)	Solution B (%)
0	82	18
8	82	18
53	0	100
58	0	100
59	82	18
73	82	18

Diluent: Methanol
System suitability solution: 20 µg/mL of USP Acetaminophen RS and 80 µg/mL each of USP Acetaminophen Related Compound B RS and USP Acetaminophen Related Compound C RS in *Diluent*
Standard solution: 1.25 µg/mL of USP Acetaminophen Related Compound D RS and 0.25 µg/mL of USP Acetaminophen Related Compound J RS in *Diluent*
Sample solution: 25 mg/mL of Acetaminophen in *Diluent*
Chromatographic system
(See *Chromatography* ⟨621⟩, *System Suitability*.)
Mode: LC
Detector: UV 254 nm
Column: 4.6-mm × 25-cm; 5-µm packing L7
Flow rate: 0.9 mL/min
Column temperature: 40°
Injection volume: 5 µL
System suitability
Samples: *System suitability solution* and *Standard solution*
[NOTE—See *Table 3* for relative retention time values.]
Suitability requirements
Tailing factor: NMT 2.0 for acetaminophen related compound D, *Standard solution*
Resolution: NLT 2.0 between acetaminophen and acetaminophen related compound B; NLT 1.5 between acetaminophen related compound B and acetaminophen related compound C, *System suitability solution*
Relative standard deviation: NMT 5.0% for acetaminophen related compound D, *Standard solution*
Analysis

acetaminophen related compound D, *Standard solution*

Analysis

Samples: *Standard solution* and *Sample solution*

Calculate the percentage of acetaminophen related compound J in the portion of Acetaminophen taken:

$$\text{Result} = (r_U/r_S) \times (C_S/C_U) \times 100$$

r_U = peak response of acetaminophen related compound J from the *Sample solution*

r_S = peak response of acetaminophen related compound J from the *Standard solution*

C_S = concentration of USP Acetaminophen Related Compound J RS in the *Standard solution* (µg/mL)

C_U = concentration of Acetaminophen in the *Sample solution* (µg/mL)

Calculate the percentage of acetaminophen related compounds B, C, and D and any unspecified impurity in the portion of Acetaminophen taken:

$$\text{Result} = (r_U/r_S) \times (C_S/C_U) \times (1/F) \times 100$$

r_U = peak response of each specified or unspecified impurity from the *Sample solution*

r_S = peak response of acetaminophen related compound D from the *Standard solution*

C_S = concentration of USP Acetaminophen Related Compound D RS in the *Standard solution* (µg/mL)

C_U = concentration of Acetaminophen in the *Sample solution* (µg/mL)

F = relative response factor for each impurity shown in *Table 3*

Acceptance criteria: See *Table 3*. [NOTE—The relative retention times and relative response factors in *Table 3* (where applicable) are calculated relative to those of acetaminophen related compound D.]

Table 3

Name	Relative Retention Time	Relative Response Factor	Acceptance Criteria, NMT (%)
Acetaminophen	0.43	—	—
Acetaminophen related compound B[a]	0.67	1.2	0.05
Acetaminophen related compound C[b]	0.71	0.38	0.05
Acetaminophen related compound D[c]	1.0	1.0	0.05
Acetaminophen related compound J[d]	1.73	—	0.001
Individual unspecified impurity	—	1.0	0.05
Total impurities	—	—	0.1

[a] *N*-(4-Hydroxyphenyl)propanamide.
[b] *N*-(2-Hydroxyphenyl)acetamide.
[c] *N*-Phenylacetamide.
[d] *N*-(4-Chlorophenyl)acetamide (*p*-chloroacetanilide).